UNIVERSITÉ DE MONTPELLIER

FACULTÉ DE MÉDECINE N° 66

Travail du Laboratoire de Microbiologie du Professeur Lisbonne

LE BACTÉRIOPHAGE DE D'HÉRELLE existe-t-il ?

LA BACTÉRIOLYSE TRANSMISSIBLE joue-t-elle un rôle DANS L'IMMUNITÉ ?

THÈSE

Présentée et publiquement soutenue à la Faculté de Médecine de Montpellier

Le 23 Juillet 1924

PAR

BOULET (Paul-Marie-Maurice)

Né à Marseille, le 8 septembre 1894
Licencié ès sciences (1913)
Lauréat de la Faculté de médecine (Prix de fin de 2e année 1914)
Interne des hôpitaux de Montpellier (Concours 1920)
Préparateur-délégué de Microbiologie à la Faculté (Concours 1921)
Prix Swiécicki (1922)
Chevalier de la Légion d'honneur. Décoré de la Croix de guerre

Pour obtenir le Grade de Docteur en Médecine

Examinateurs de la Thèse	L SBONNE, professeur, *Président.*	
	DUCAMP, professeur.	
	RIMBAUD, professeur.	*Assesseurs.*
	BOUDET, agrégé.	

MONTPELLIER
« L'ABEILLE », IMPRIMERIE COOPÉRATIVE OUVRIÈRE
14, Avenue de Toulouse. — Téléphone : 8-78

1924

LE BACTÉRIOPHAGE DE D'HÉRELLE
existe-t-il ?
LA BACTÉRIOLYSE TRANSMISSIBLE
joue-t-elle un rôle
DANS L'IMMUNITÉ ?

UNIVERSITÉ DE MONTPELLIER

FACULTÉ DE MÉDECINE N° 66

Travail du Laboratoire de Microbiologie du Professeur Lisbonne

LE BACTÉRIOPHAGE DE D'HÉRELLE existe-t-il ? LA BACTÉRIOLYSE TRANSMISSIBLE joue-t-elle un rôle DANS L'IMMUNITÉ ?

THÈSE

Présentée et publiquement soutenue à la Faculté de Médecine de Montpellier

Le 23 Juillet 1924

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

PAR

BOULET (Paul-Marie-Maurice)

Né à Marseille, le 8 septembre 1894
Licencié ès sciences (1913)
Lauréat de la Faculté de médecine (Prix de fin de 2e année 1914)
Interne des hôpitaux de Montpellier (Concours 1920)
Préparateur-délégué de Microbiologie à la Faculté (Concours 1921)
Prix Swiécicki (1922)
Chevalier de la Légion d'honneur. Décoré de la Croix de guerre

Pour obtenir le Grade de Docteur en Médecine

Examinateurs de la Thèse

LISBONNE, professeur. *Président.*
DUCAMP, professeur.
RIMBAUD, professeur. } *Assesseurs.*
BOUDET, agrégé.

MONTPELLIER
« L'ABEILLE », IMPRIMERIE COOPÉRATIVE OUVRIÈRE
14, Avenue de Toulouse. — Téléphone : 8-78

1924

PERSONNEL DE LA FACULTÉ

Professeurs

Anatomie	MM. GILIS.
Histologie	VIALLETON.
Physiologie	Ch. HEDON.
Chimie biologique et médicale	DERRIEN.
Physique médicale	PECH.
Botanique et histoire naturelle médicales	N...
Anatomie pathologique	GRYNFELTT.
Microbiologie	LISBONNE.
Pathologie et thérapeutique générales	BOSC.
Pathologie médicale et clinique propédeutique	RIMBAUD.
Thérapeutique et matière médicale	VIRES.
Hygiène	H. BERTIN-SANS.
Médecine légale et médecine sociale	GAUSSEL.
Clinique médicale	DUCAMP.
	VEDEL.
Clinique chirurgicale	FORGUE, *assesseur*
	ESTOR.
Clinique obstétricale	VALLOIS.
Clinique des maladies mentales et nerveuses	EUZIERE, *doyen*.
Clinique ophtalmologique	TRUC.
Clinique des maladies des enfants	LEENHARDT.
Clinique chirurgicale infantile et orthopédie	MASSABUAU.
Clinique gynécologique	DE ROUVILLE.
Clinique d'oto-rhino-laryngologie	MOURET.
Clinique des maladies des voies urinaires	JEANBRAU.
Accouchements (Ch. de c.)	P. DELMAS.

Honorariat

Doyens honoraires : MM. VIALLETON et MAIRET.

Professeurs honoraires : MM. RODET, BAUMEL, TEDENAT, MAIRET, GRANEL

Secrétaires honoraires : MM. GOT et IZARD.

Chargés de Cours complémentaires

Anatomie	MM. J. DELMAS.
Clinique propédeutique de chirurgie	RICHE.
Clinique des maladies syphilitiques et cutanées	MARGAROT.
Médecine opératoire	SOUBEYRAN.
Pathologie externe	ETIENNE.
Pathologie chirurgicale et expérimentale	LAPEYRE.
Accouchements	P. DELMAS, prof.
Histoire naturelle médicale	GALAVIELLE.
Matière médicale	CABANNES.
Chimie appliquée à la clinique	FLORENCE.
Clinique des maladies des vieillards	BOUDET.
Pathologie médicale	CARRIEU.
Hydrologie et climatologie	GIRAUD.
Histologie	TURCHINI.
Physiologie	L. HEDON.
Stomatologie	Dr WATON.

Agrégés en exercice

Médecine	MM. MARGAROT. GIRAUD. BOUDET. CARRIEU.	Chirurgie	MM. RICHE. ETIENNE. LAPEYRE.
Anatomie	J. DELMAS.	Physique	LAMARQUE.
Chimie	FLORENCE.	Histologie	TURCHINI.
Histoire natur.	GALAVIELLE CABANNES.	Ophtalmologie.	VILLARD.
		Physiologie	L. HEDON.

Examinateurs de la thèse :

MM. LISBONNE, profr, *président*. | MM. RIMBAUD, professeur.
DUCAMP, professeur. | BOUDET, agrégé.

La Faculté de Médecine de Montpellier déclare que les opinions émises dans les dissertations qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leur auteur ; qu'elle n'entend leur donner ni approbation, ni improbation.

A MON PÈRE ET A MA MÈRE

A MES SŒURS ET A MES BEAUX-FRÈRES

A TOUTE MA FAMILLE

A MES CAMARADES
D'INTERNAT ET DE LABORATOIRE

A TOUS MES AMIS

P. BOULET.

A MON JURY DE THÈSE :

A MON MAITRE ET PRÉSIDENT DE THÈSE

MONSIEUR LE PROFESSEUR LISBONNE

PROFESSEUR DE MICROBIOLOGIE

En m'ouvrant les portes de votre Laboratoire, vous m'avez permis d'associer aux études cliniques les recherches expérimentales.

Je n'oublierai jamais quel Maître vous avez été pour moi !

A MON MAITRE

MONSIEUR LE PROFESSEUR DUCAMP

PROFESSEUR DE CLINIQUE MÉDICALE

CHEVALIER DE LA LÉGION D'HONNEUR

C'est de vous que j'ai reçu mes premières leçons de pathologie ; c'est auprès de vous que je termine mon internat. Le souvenir du Maître éclairé et bienveillant que j'ai trouvé en vous restera inséparable du souvenir de ces années de travail.

A MON MAITRE

MONSIEUR LE PROFESSEUR RIMBAUD

PROFESSEUR DE PATHOLOGIE MÉDICALE

ET DE CLINIQUE PROPÉDEUTIQUE

CHEVALIER DE LA LÉGION D'HONNEUR

Au Maître dont j'ai eu le bonheur de recevoir le lumineux enseignement clinique, et qui voulut être pour moi un guide affectueux. En témoignage de ma profonde reconnaissance.

A M. LE PROFESSEUR AGRÉGÉ BOUDET

AGRÉGÉ DE MÉDECINE

Qui a contribué à me faire comprendre le rôle éminemment social du médecin.

P. BOULET.

A MES MAITRES
DE LA FACULTÉ DE MÉDECINE
DE MONTPELLIER

A MES MAITRES DANS LES HOPITAUX
DE MONTPELLIER

P. BOULET.

AVANT-PROPOS

Depuis trois ans, nous avons effectué, dans le laboratoire de Microbiologie de la Faculté, sous la direction de notre Maître M. le professeur Lisbonne, une série de recherches relatives au phénomène de la bactériolyse transmissible.

Il s'agit d'une question toute neuve, et pourtant les travaux qu'elle a suscités sont déjà considérables.

Nous n'avons pas la prétention de les analyser tous ; nous voulons pourtant retracer à grands traits le vaste débat qui s'est ouvert ; un nouveau phénomène a été révélé aux biologistes : quelle est sa nature, quelle importance est-il appelé à prendre en médecine ?

Dans le cadre formé par les lignes essentielles de cette discussion, nous insérerons, en précisant la place exacte qu'ils doivent y occuper, nos travaux personnels, bien modeste contribution à l'étude d'un phénomène qui a éveillé la curiosité de tant de chercheurs.

LE BACTÉRIOPHAGE DE D'HÉRELLE

existe-t-il ?

LA BACTÉRIOLYSE TRANSMISSIBLE

joue-t-elle un rôle dans l'immunité ?

INTRODUCTION

LE PHÉNOMÈNE DE LA BACTÉRIOLYSE TRANSMISSIBLE

1° Expérience fondamentale.

D'Hérelle, en 1917, attire l'attention des biologistes sur un phénomène nouveau ; voici le récit qu'il donne de ses premières constatations (1) et (2) :

« Un sujet adulte, atteint de dysenterie grave à Bacille de Shiga, était en traitement à l'hôpital Pasteur.

Je prélevais journellement une dizaine de gouttes de ses déjections que j'introduisais dans un tube de bouillon. Après une nuit à l'étuve, l'émulsion était filtrée sur bougie Chamberland.

---

(1) C. R. Acad. des Sciences, 1917, t. CLXV, p. 373.

(2) **F. d'Hérelle.** — Le Bactériophage, son rôle dans l'immunité ; 1 vol. Masson et Cie, édit., Paris, 1921, p. 8.

A un nouveau tube de bouillon, préalablement ensemencé avec le B. dysentérique de Shiga, j'ajoutais une dizaine de gouttes de filtrat, puis je le plaçais à l'étuve. Tant que dura la maladie, tous les tubes préparés chaque jour de la même manière donnèrent une culture normale de B. dysentériques.

Un jour, le tube préparé la veille resta stérile : renseignements pris, le malade présentait une amélioration notable, rapidement suivie d'une franche convalescence.

Au bouillon ensemencé et additionné de filtrat, resté en apparence stérile, j'ajoutai une émulsion de B. de Shiga provenant d'une culture jeune sur gélose, de manière à obtenir un louche franc. Le tube fut placé à l'étuve : après une douzaine d'heures, il était limpide.

Les déjections ayant servi à préparer le filtrat contenaient donc un principe qui dissolvait le Bacille dysentérique.

J'ajoutai alors une goutte de la culture lysée à une culture récente en bouillon de B. de Shiga : une quinzaine d'heures plus tard, la culture était lysée à son tour.

J'effectuai de même plusieurs passages successifs, introduisant chaque fois une goutte de la culture précédemment lysée dans une nouvelle culture de B. de Shiga : l'action, loin de diminuer d'intensité, s'exaltait à chaque passage, la lyse s'obtenant de plus en plus rapidement. »

2° Caractéristiques du phénomène.

Tel est le phénomène fondamental observé par d'Hérelle. Voici ses caractéristiques :

Dans certaines conditions (contact de selles de dysen-

térique au début de la convalescence), le B. de Shiga est susceptible d'être lysé ; le milieu qui renferme ces bacilles dissous, redevenu clair, s'appelle un lysat.

Une quantité minime du lysat étant transportée dans une émulsion de B. de Shiga jeunes, cette émulsion se clarifie, se lyse. On a un second lysat.

Une quantité minime du second lysat étant transportée dans une nouvelle émulsion de B. de Shiga jeunes, cette nouvelle émulsion se lyse.

Et ainsi de suite : le phénomène de la bactériolyse *est transmissible en série*, à la condition toutefois que les bacilles de Shiga des émulsions soient vivants : une quantité minime d'un lysat quelconque est capable de lyser une émulsion de jeunes B. de Shiga.

Si on filtre un lysat, on a un filtrat : le filtrat possède les mêmes propriétés lysantes que le lysat d'où il provient. Le principe actif qui détermine la lyse traverse une bougie Chamberland L_3*. C'est un principe filtrant.

3° Divisions de notre étude.

Il s'agissait d'expliquer ce phénomène, de déterminer la cause de la bactériolyse transmissible, la nature du principe bactériolysant : dans une première partie, nous envisagerons ce côté du problème.

On remarquera, en outre, que d'Hérelle établit une corrélation entre l'apparition du phénomène et l'entrée du malade en convalescence : le phénomène jouerait un

---

* Le filtrat est même plus sûrement actif que le lysat, car le lysat renferme encore quelques bacilles résistants susceptibles de se développer en donnant une culture secondaire, et de voiler le phénomène de la lyse. Le filtrat est débarrassé de ces résistants. On peut encore s'en débarrasser par chauffage, qui laisse intact le principe actif (chauffage 1/2 heure à 58°).

rôle dans l'immunité. L'étude de ce rôle possible fera l'objet de la seconde partie de notre travail.

Nota. — D'Hérelle a eu des précurseurs : Hankin (Ann. Inst. Pasteur, t. X, n° 9), Haffkine, Eliava ont rapporté des faits qu'on peut rétrospectivement rapprocher de ceux de d'Hérelle. Twort (The Lancet, 1915, p. 1241) signale, parmi les colonies de staphylocoque blanc isolées de la pulpe vaccinale glycérinée, des phénomènes de lyse transmissible, en série, fort comparables à ceux que d'Hérelle devait décrire en 1917. Il arrête ses recherches à cause de « financial considerations ». Comme il le prévoyait, il a montré « les voies le long desquelles d'autres auteurs, placés dans des conditions plus heureuses », ont pu avancer. En fait, on retrouve, en germe, dans les travaux de Twort, l'énoncé des grandes théories entre lesquelles se partagent actuellement les auteurs.

Le phénomène mérite le nom de phénomène de Twort-d'Hérelle.

PREMIÈRE PARTIE

LE BACTÉRIOPHAGE DE D'HÉRELLE existe-t-il ?

DIVISION I

UNE GRANDE DISCUSSION

ULTRAMICROBE BACTÉRIOPHAGE OU DIASTASE BACTÉRIENNE ?

ANALYSE DES PROPRIÉTÉS DU PRINCIPE ACTIF

CHAPITRE PRÉLIMINAIRE

LES DEUX HYPOTHÈSES POSSIBLES

§ 1. — RÉGÉNÉRATION

Nous avons vu que le fait essentiel du phénomène décrit par d'Hérelle se résume en ceci :

Une goutte de lysat, ajoutée à une émulsion bactérienne*, produit la lyse de cette émulsion ; une goutte de ce nouveau lysat est capable de lyser une nouvelle émulsion, et ainsi de suite indéfiniment.

Si le premier tube lysé renfermait une substance produite une fois pour toute, cette substance lysante, après

---

* D'Hérelle a décrit la lyse du B. de Shiga. Depuis, on a reproduit le phénomène sur de nombreuses espèces microbiennes : coli, staphylocoque, typhique, pyocyanique, etc.

un certain nombre de transports d'une quantité minime de lysat dans une nouvelle émulsion bactérienne, serait tellement diluée que son action deviendrait nulle.

Or, au cours de ces transports successifs, loin de s'éteindre, la lyse ne fait que s'intensifier ; on a introduit une goutte de lysat dans 10 cc. d'émulsion : *on possède à la fin de la nouvelle lyse 10 cc. de lysat dont chaque goutte est aussi et même plus active que la goutte introduite.*

Tout se passe donc comme si la substance qui détermine la lyse* *se régénérait* à chaque passage (c'est-à-dire après chaque transport, et pendant la bactériolyse).

Il y a donc bactériolyse *indéfiniment transmissible*, ou *bactériolyse en série*, avec (au moins en apparence) *régénération* (et même exaltation) de la cause qui détermine la bactériolyse, et cette cause a pour substratum un *principe filtrant.*

Toute hypothèse sur la nature du phénomène devra se montrer capable d'expliquer cette *régénération d'un principe filtrant.*

§ 2. — LES DEUX HYPOTHÈSES

Dans l'état actuel de nos manières de penser, nous rattachons volontiers à *la vie* tout principe qui se régénère (c'est-à-dire dont nous voyons se multiplier la propre substance) au sein d'un milieu hétérogène (ici le bouillon, milieu de culture)**.

---

* Nous appelons cette substance : principe actif, principe bactériolysant, principe lysant, ou lysat actif, etc., ou filtrat actif, etc., sans préjuger de sa nature. Nous préférons le terme de lysant au terme ordinairement adopté de lytique. Nous l'appelons aussi, par abréviation : le principe.

** Les cristaux, en effet, se régénèrent, mais seulement aux dépens d'un milieu homogène : solution saturée de leur propre substance.

Or, dans nos tubes d'expérience existent des êtres vivants, des bactéries. Ils sont dans un milieu nutritif où ils peuvent se multiplier. Bordet et Ciuca (1) ont montré que, pour que le principe actif se régénère, il faut que les bactéries aient pu se multiplier avant d'être lysées.

On devait donc être amené à se poser cette question : les bactéries ne produiraient-elles pas elles-mêmes les substances qui déterminent la bactériolyse ? Le principe actif ne serait-il pas un *produit soluble de l'activité bactérienne ?* D'Hérelle a envisagé cette hypothèse (2), avant l'ouverture de toute discussion, et il dit l'avoir rejetée parce que contraire aux faits d'expérience.

Si l'on n'admet pas la régénération du principe actif par les bactéries, seuls êtres vivants de nos tubes d'expérience, il devient nécessaire de supposer l'existence, dans ces tubes, d'un autre être vivant, invisible au microscope, capable de traverser une bougie (Chamberland L_3), agent direct de la bactériolyse ou producteur de substance bactériolysante. Cet être vivant est un ultramicrobe, un virus filtrant, et il devait préexister dans les selles de notre dysentérique.

C'est le *Bacteriophagum intestinale* de d'Hérelle, 1918 (3), ainsi nommé parce qu'il se nourrit de bactéries (βακτεριον ; φαγειν).

De 1917 à 1920, d'Hérelle soutient cette hypothèse, sans être contredit. Mais en 1920 apparaissent les premiers efforts de contradiction ; à la conception de d'Hérelle certains auteurs opposent la conception que d'Hérelle avait rejetée : le principe actif est *produit par les bacté-*

(1) C. R. Soc. de Biol., t. LXXXV, 1921, p. 1095.
(2) C. R. Soc. de Biol., t. LXXXII, 1919, p. 1237.
(3) C. R. Acad. des Sc., t. CLXVII, 1918, p. 970.

ries vivantes, sans cesse régénéré par elles ; c'est un produit soluble, volontiers assimilé à une *diastase : les bactéries impressionnées par cette diastase libèrent une diastase semblable.*

Depuis lors, une vaste discussion est engagée entre les partisans de chacune des deux grandes hypothèses.

Pour les uns, il existe un *Bactériophage*, ultravirus, être vivant autonome. Pour les autres, le Bactériophage n'existe pas : le principe bactériolysant est plus ou moins assimilable à une *diastase d'origine bactérienne* *.

Nous allons essayer de retracer cette discussion.

§ 3. — PLAN

Il nous serait difficile de suivre, ici, un ordre rigoureusement historique ; les éléments de la discussion s'enchevêtrent étroitement et empiètent, chronologiquement, les uns sur les autres. C'est donc dans un ordre logique que nous nous efforcerons de classer les arguments.

Les adversaires du Bactériophage de d'Hérelle ont fondé leurs convictions sur deux séries de recherches :

Avec Kabeshima, ils ont cru prouver que le principe bactériolysant possédait les propriétés d'une *diastase :* il était alors nécessaire d'admettre qu'il était régénéré par les bactéries.

Puis, avec Bordet et Ciuca, ils ont cru obtenir ce principe dans des conditions telles que sa *génération* par les bactéries parût évidente : il fallait dès lors le supposer de nature diastasique.

---

* Le terme de diastase ne doit pas être pris forcément dans le sens précis du mot ; il faut l'entendre dans le sens de produit soluble actif : nous employons cette expression faute d'en trouver une meilleure.

D'Hérelle a réfuté un à un ces deux groupes d'arguments ; il s'est attaché à démontrer directement, par des *arguments majeurs*, que le principe actif possédait toutes les propriétés d'un être vivant autonome, spécifiquement distinct des bactéries.

CHAPITRE I

LE PRINCIPE ACTIF EST-IL DIASTASIQUE ?

En étudiant une à une les propriétés du principe bactériolysant, certains auteurs ont cru découvrir que chacune de ces propriétés pouvait, et même devait être attribuée à un ferment soluble, à une *diastase :* ils devinrent adversaires du Bactériophage.

Le mot diastase demande à être précisé. D'Hérelle, au moment où s'ouvre cette discussion, reconnaît bien (1) que son Bactériophage doit agir en sécrétant des diastases (il croit même les avoir isolées), mais ces diastases sont produites à chaque instant par le Bactériophage, être vivant distinct de la bactérie lysée.

Pour les adversaires du Bactériophage, au contraire, la diastase lysante est indépendante de tout ultravirus : elle est engendrée par la bactérie elle-même, *sans présence nécessaire* d'ultravirus étranger.

En d'autres termes, si l'on considère le produit de

(1) Le Bactériophage (Masson, 1921), p. 94.

filtration d'une culture lysée, pour d'Hérelle ce filtrat renferme un ultravirus autonome, pour les adversaires du Bactériophage ce filtrat ne renferme, comme élément actif, qu'une diastase : ce sont donc les propriétés d'un tel *filtrat* qui doivent être soumises à une analyse méthodique.

Examinons les arguments apportés en faveur de la théorie diastasique, et, à propos de chacun de ces arguments, la réfutation de d'Hérelle.

§ 1. — PROPORTIONS

Kabeshima (1) note qu'une quantité minime du principe actif dissout, en un temps très court, une grande quantité de microbes ; il rapproche le phénomène d'un phénomène de digestion et compare le principe actif à un ferment digestif.

Or, précisément, d'Hérelle (2) se sert de cet argument pour appuyer sa théorie : sans doute, une quantité minime de diastase peut transformer une quantité énorme de substance, mais, au moins au début, il y a proportionnalité entre la quantité de diastase employée et l'énergie, la rapidité de l'action ; avec le Bactériophage, rien de semblable ; ce qui agit, c'est la *qualité* du principe et non sa quantité ; un microbe tue par sa virulence, un poison par sa masse.

Bordet et Ciuca (3) reprennent l'attaque avec un autre argument : une très petite quantité de principe actif est

(1) C. R. Soc. de Biol., t. LXXXIII, 1920, p. 219.
(2) Le Bactériophage (Masson, 1921), p. 101.
(3) C. R. Soc. de Biol., t. LXXXVI, 1922, p. 295.

mise au contact d'un grande quantité de microbes : le principe ne se régénère pas. Dans l'hypothèse de d'Hérelle, le contraire devrait se produire : le Bactériophage, en présence d'une grande quantité de microbes qui constituent pour lui une nourriture abondante, devrait se multiplier considérablement. Au contraire le phénomène s'explique avec la théorie de Bordet : la quantité de diastase qui se répartit sur chaque bactérie est trop faible pour impressionner cette bactérie avec l'énergie voulue ; les bactéries trop peu touchées ne régénèrent pas le principe actif.

A cela d'Hérelle répond (1) : les bactéries, attaquées par le Bactériophage, se défendent en sécrétant une substance inhibante ; si, dans l'expérience de Bordet, le principe est devenu inactif, c'est à cause de l'abondance de cette substance inhibante ; en diluant suffisamment le principe inactivé (et donc la substance inhibante) on peut lui rendre son activité : la propriété lysante n'avait pas été perdue.

Bordet et Ciuca (*loc. cit.*) et (2) montrent encore que, si on refait leur expérience en réduisant un peu la disproportion entre le principe et les bactéries, on obtient un principe définitivement faible ; pour ces auteurs, si le principe est faible, c'est que des bactéries faiblement impressionnées régénèrent un principe faible. On peut d'ailleurs obtenir un principe faible (3) en mettant en contact avec des bactéries une quantité assez considérable de principe actif, pourvu que ce contact soit de très courte durée. Le principe faible peut être obtenu

(1) C. R. Soc. de Biol., t. LXXXVI, 1922, p. 360.
(2) C. R. Soc. de Biol., t. LXXXVII, 1922, p. 366.
(3) C. R. Soc. de Biol., t. LXXXVII, 1922, p. 987.

autrement encore : on coule, sur une culture de B. coli en nappe (sur gélose), une goutte de principe actif : il se fait une lyse le long de la traînée, et la lyse déborde un peu les limites de la traînée ; dans cette zone de débordement, le principe recueilli est un principe faible. De même, une gouttelette de principe, déposée à plat sur une culture, donne une tache entourée d'un halo : le principe prélevé dans le halo est faible. Dans tous ces cas, le principe faible est né au contact de bactéries faiblement impressionnées. Un principe fort est capable de donner, selon les proportions, soit un principe fort, soit un principe faible (1).

Pour expliquer ces faits, dans l'hypothèse de d'Hérelle, il faut supposer qu'il existe un Bactériophage virulent et un atténué, que le virulent se reproduit moins abondamment que le faible (les dilutions considérables ne renfermant plus que la souche faible), que le virulent se reproduit moins vite que le faible (les contacts passagers ne laissant reproduire que le faible), que le virulent est moins diffusible que le faible (ce dernier se retrouvant seul dans le halo de diffusion), toutes conclusions bien peu conformes aux lois de la biologie générale.

Enfin, autre argument peut-être en faveur de l'hypothèse diastasique : si le principe bactériolysant est très abondant, les cultures secondaires se développent plus tôt (2), soit que le milieu rapidement encombré par certaines substances produites devienne défavorable, soit que les bactéries sensibles n'aient pas eu le temps de se multiplier suffisamment avant la lyse ; elles ne peuvent

(1) **Gratia** et Mlle **Lois de Kruif**. C. R. Soc. de Biol., t. LXXXVIII, 1923, p. 629.

(2) **Alen Saldanha**. C. R. Soc. de Biol., t. LXXXVI, 1922, p. 623, et constatations personnelles.

régénérer le principe que faiblement ; les bactéries résistantes se développent à l'aise. Il est vrai que semblable raisonnement pourrait être fait avec la théorie de d'Hérelle : la bactérie-nourriture a été rapidement consommée, avant de s'être multipliée, et les Bactériophages se trouvent dans l'impossibilité de pulluler, car ils n'ont bientôt plus en face d'eux que des bactéries résistantes.

La question des « proportions » ne permet donc pas, actuellement, de confirmer ni d'infirmer l'hypothèse diastasique.

§ 2. — COMPOSITION DU MILIEU D'ACTION

1° Action des électrolytes.

Les diastases ne sauraient agir dans un milieu trop pauvre en électrolytes, où, cependant, les microbes pourraient se développer. Comment se comporte le principe actif à cet égard ?

Da Costa Cruz (1), Lisbonne et Carrère (2) ont montré que la propriété de lyser ne peut se manifester dans un milieu privé d'électrolytes libres.

Ciuca (3) observe au contraire que la lyse transmissible s'opère en l'absence d'électrolytes libres.

Les faits sont contradictoires.

D'ailleurs, en supposant les électrolytes indispensables au phénomène, chaque théorie s'en accommode très bien :

---

(1) C. R. Soc. de Biol., t. LXXXIX, 1923, p. 759.

(2) C. R. Soc. de Biol., t. LXXXIX, 1923, p. 865, et **Carrère** : Mémoire inédit Acad. des Sc. et Lettres de Montpellier, déc. 1922, et Montpellier Médical, 1924.

(3) C. R. Soc. de Biol., t. XC, 1924, p. 521.

Les partisans de la diastase diront avec da Costa Cruz (1) : le principe se comporte comme un anticorps : l'eau distillée le précipite (tandis que ce sont les électrolytes qui floculent les êtres vivants microscopiques). Il ne se distingue pas des globulines par ses propriétés physiques. Il est incapable de nuire à des bactéries dans certains milieux où pourtant elles se reproduisent ; et, à ces milieux, il suffirait d'ajouter un sel quelconque pour que le prétendu Bactériophage inactif devînt, de ce fait, parasite actif ! D'Hérelle n'avait-il pas dit en 1921 (2) : « Le véritable milieu de culture des ultramicrobes bactériophages, c'est la bactérie vivante ; la nature du liquide dans lequel se trouve plongée la bactérie ne doit donc avoir aucune influence directe sur la culture des Bactériophages, pourvu que les bactéries y restent vivantes. »

Mais au cas où les électrolytes auraient été indispensables (ce que ni d'Hérelle (3), ni Brutsaert (4) ne pensent), au cas donc où d'Hérelle eût été obligé de renier son opinion de 1921, il aurait toujours pu répondre (il le dit lui-même) : puisque la bactérie se développe dans un milieu pauvre en électrolytes, si le principe actif était un produit bactérien, il s'y régénérerait.

L'argument des électrolytes est le type des arguments à double tranchant : il ne tranche pas la question.

---

(1) Brazil Medico, 1923, vol. II, p. 202, et C. R. Soc. de Biol., t. XC, 1924, pp. 236 et 694.

(2) Le Bactériophage (Masson, 1921), p. 28.

(3) C. R. Soc. de Biol., t. LXXXIX, 1923, p. 914.

(4) C. R. Soc. de Biol., t. LXXXIX, 1923, p. 1175.

2° Réaction du milieu.

D'Hérelle note que, par exception à la loi dont nous venons de reproduire le texte, le Bactériophage cesse d'agir et de se régénérer dès que le milieu présente la plus minime acidité au tournesol (1).

Ici encore, le fait pourrait être interprété aussi bien en faveur de la théorie diastasique que de la théorie de d'Hérelle.

Certaines diastases agissent seulement en milieu alcalin, d'autres en milieu acide.

Par contre, un principe d'origine bactérienne devrait se régénérer dès que les bactéries se développent ; or, pour un certain degré d'acidité du milieu, les bactéries se multiplient sans que le principe se reforme.

3° Présence d'antiseptique dans le milieu.

Un antiseptique comme le chloroforme empêche la multiplication des bactéries, mais ne détruit pas le principe lysant : il l'empêche simplement de se régénérer, ce qui peut s'expliquer par les deux théories.

Beaucoup plus complexe est l'action du fluorure de sodium : il ne détruit pas le principe actif, mais la lyse ne se produit pas en présence de fluorure à 2 pour 1000 (2).

Les partisans de la diastase diront : la bactériolyse

---

(1) Le Bactériophage (Masson, 1921), p. 28.

(2) **D'Hérelle**. C. R. Soc. de Biol., t. LXXXVIII, 1923, p. 407.

n'a pas lieu, car la bactérie ne se reproduisant pas ne régénère plus le principe.

Mais, fait remarquer d'Hérelle, le B. de Shiga et le B. coli donnent des cultures dans le fluorure à 2 pour 1000 ; pourtant la lyse ne s'y produit pas, bien que le Bactériophage ne soit pas détruit ; il doit exister une forme latente de Bactériophage (1), semblable à une forme sporulée, résistant aux antiseptiques : dans le fluorure, la forme végétative est détruite, la forme latente résiste, mais est inactive.

Il est vrai que l'on pourrait tout aussi bien supposer que, dans un tel milieu, les propriétés fermentatives des microbes sont inhibées, que les diastases lysantes ne sont plus produites (2).

Les deux théories peuvent s'accommoder de ces faits.

4° **Remarques.**

Il eût été étonnant de voir l'étude du milieu d'action résoudre le problème. En effet, *pendant l'action* du principe lysant, c'est toujours une diastase qui agit, en fin de compte, et cette diastase est produite par un être vivant (Bactériophage ou bactérie) en voie de développement.

Donc, si on peut prouver que l'action ne se produit que dans un milieu où agissent les diastases, les uns diront : le Bactériophage, n'agit que par ses diastases ; et les autres : il est beaucoup plus simple de rapporter l'action à une diastase bactérienne.

---

(1) *Id., ibid.* et **Wolf** et **Janzen**. C. R. Soc. de Biol., t. LXXXVII, 1922, p. 1087.
(2) **Brutsaert**. C. R. Soc. de Biol., t. LXXXIX, 1923, p. 1178.

Ce n'est donc pas *pendant la lyse* que l'on devra étudier le principe actif : une série d'expériences a tenté de rechercher ses propriétés en dehors de la lyse, en le soumettant à des actions physiques ou chimiques. Nous allons rapporter ces expériences.

§ 3. — ACTION DE CERTAINS AGENTS PHYSIQUES NON DESTRUCTEURS

1° Précipitation.

Les diastases sont entraînées par certains précipités ; ces précipités peuvent être redissous sans que la diastase soit détruite. Dès lors, on peut obtenir, à partir d'un produit impur, des précipités et des extraits successifs, de plus en plus riches en principe diastasique.

Kabeshima (1) fait agir l'acétone sur le principe actif en bouillon : il se forme un précipité dont l'activité serait accrue. Il fait agir l'éther sur le principe actif, puis précipite par évaporation ou par l'alcool ; les produits obtenus auraient augmenté d'activité. Maisin (2) obtient par le sulfate d'ammoniaque à saturation un entraînement du principe actif.

D'Hérelle réplique (3) : les spores de B. subtilis sont entraînées par les précipités que forment l'alcool et l'acétone dans le bouillon mais ne sont pas tuées ; il pourrait en être de même pour une forme de résistance du

(1) C. R. Soc. de Biol., t. LXXXIII, 1920, pp. 219 et 472.
(2) C. R. Soc. de Biol., t. LXXXIV, 1921, p. 467.
(3) C. R. Soc. de Biol., t. LXXXIII, 1920, p. 247.

Bactériophage. Quant à l'action de l'éther, ses résultats infirment ceux de Kabeshima : l'éther entraîne seulement quelques éléments, les tient en suspens, et l'activité du prétendu extrait est fort réduite, tandis que le bouillon qui avait été traité par l'éther reste actif.

L'alcool donne, lui aussi, un précipité : il est actif. Mais d'Hérelle prétend (1) qu'il ne renferme que les produits de sécrétion du Bactériophage : son action lytique ne se transmet pas en série. Le Bactériophage, être vivant, est détruit par l'alcool ; ses produits diastasiques de sécrétion ne le sont pas.

L'argument de Kabeshima n'est donc pas décisif. Il en est de même de l'argument invoqué par de Necker : l'adsorption du principe bactériolysant par le noir animal (2) et par les métaux colloïdaux (3).

2° Dialyse.

Ici, c'est la défense du Bactériophage qui prend les devants. Les ultravirus traversent des filtres de collodion qui retiennent les diastases, l'alexine et les anticorps. Or, d'Hérelle montra 1. que son Bactériophage traversait les filtres de collodion capables de laisser passer les micelles albumineuses de sérum ; ce résultat, infirmé par Maisin (5), fut confirmé par Prausnitz (6) [pour cet

(1) Le Bactériophage (Masson, 1921), p. 93.

(2) **De Poorter et Maisin.** Arch. inter. de ph. et de th., 1920, t. XXV, p. 479.

(3) **De Necker.** C. R. Soc. de Biol., t. LXXXVII, 1922, p. 1247.

(4) C. R. Soc. de Biol., t. LXXXI, 1918, p. 1160. — Le Bactériophage Masson, 1921, p. 88, et Revue de Pathol. comp., octobre 1923, p. 613.

(5) C. R. Soc. de Biol., t. LXXXIV, 1921, p. 467.

(6) Klin. Wochenschr, t. I, 12 août 1922, p. 1641.

auteur, le diamètre du corpuscule bactériophage ne pourrait être inférieur à $0\mu,02$.] Levaditi et Nicolau (1) montrèrent que le Bactériophage présentait des propriétés et dimensions analogues à celles des ultravirus neurotropes.

Mais ces divers ultravirus étant adsorbés par les suspensions mêmes qui fixent les ferments solubles, les toxines et certaines matières colorantes, quelques auteurs (Doerr, Woodcock, da Costa Cruz) mettent en doute tous les ultravirus, et les considèrent comme des toxines cellulaires.

De ce que le principe bactériolysant traverse les membranes de collodion, on ne saurait donc rien conclure de précis sur sa nature.

Remarque. — A propos de l'état physique du Bactériophage, d'Hérelle fait remarquer (C. R. Soc. de Biol., t. XC, 1924, p. 27) que Obsen et Yasaki (Klin. Wochenschr., t. 2, 1923, p. 1879), distillant le principe dans le vide, avaient cru prouver sa volatilité (ce qui d'ailleurs ne s'accordait avec aucune des deux hypothèses étudiées, mais posait de nouveau le problème des miasmes). En réalité, dans cette distillation, l'air barbotant forme des vésicules liquides : les gouttelettes entraînées peuvent véhiculer des microbes (Naegeli et Buchner, Flügge : Zeitschr. f. Hygiene, t. XXV, 1897, p. 179). D'Hérelle, distillant en évitant la formation de bulles, a obtenu un distillat indemne de tout principe actif.

§ 4. — AGENTS DE DESTRUCTION

1° Vieillissement.

Après 6 ans de conservation en tube scellé, le principe est encore actif quoique atténué. Il résiste longtemps, à

(1) C. R. Soc. de Biol., t. LXXXVIII, 1923, p. 66.

l'état même de dessiccation. Ceci serait plutôt en faveur de la théorie diastasique.

Mais d'Hérelle (1) objecte que certaines bactéries non sporulées se comportent de même : un vieillissement prolongé ne les tue pas ; il diminue leur vitalité.

2° Action de la chaleur.

D'Hérelle dit, au début de ses recherches, que le Bactériophage est tué par une température de 65° C (pendant 30 minutes) (2).

Kabeshima prétend que le principe résiste à la température de 70° pendant 1 heure, d'où il conclut que ce principe n'est pas un être vivant (3).

D'Hérelle (4) constate que les lysats âgés résistent mieux à la température de 68° que les jeunes ; il se demande s'il ne se produirait pas une forme de résistance.

Kabeshima (5) observe, au contraire, que les lysats âgés résistent moins bien que les jeunes, et que les chauffages de 2 heures en 2 heures, à 60°-70°, produits en cours même de lyse, ne détruisent pas le principe, alors que les spores du B. subtilis sont détruites dans des conditions analogues.

D'Hérelle (6) réplique qu'il a dit « forme de résistance »

---

(1) Le Bactériophage (Masson, 1921), p. 89.
(2) *Ibid.*, p. 90.
(3) C. R. Soc. de Biol., t. LXXXIII, 1920, p. 219.
(4) C. R. Soc. de Biol., t. LXXXIII, 1920, p. 248.
(5) C. R. Soc. de Biol., t. LXXXIII, 1920, p. 472.
(6) C. R. Soc. de Biol., t. LXXXIII, 1920, p. 1319.

et non « spore ». D'ailleurs, on connaît des bactéries cultivables à 75°.

Cette question du chauffage a été reprise depuis : les résultats obtenus par les divers auteurs n'étaient pas concordants. Twort (1) avait détruit son principe lytique au-dessous de 60°. D'Hérelle, au début de ses recherches, avait donné comme température de destruction 65°, Kabeshima 65° à 70°, Gratia et Jaumain 61°-62° pour le principe staphylophage et plus de 65° pour le principe coliphage (2) [d'où leur théorie de la dualité du principe]. D'Hérelle et Pozerski (3) reprennent leurs expériences avec une autre technique et observent la destruction à 75° et l'atténuation dès 60° ; Bruynoghe et Maisin (4) notent une température de destruction supérieure à 70°, de Necker la destruction à 70°, l'atténuation à 56°-58° (5). Hauduroy (6) distingue une température d'inhibition, variable avec chaque souche, et une température de destruction (activité non récupérable) identique pour toutes les souches : 102° (état humide) et 135° (état sec) ; il est vrai que l'auteur a expérimenté par chauffage à tube ouvert. Tchang-Kouo-Ngen et Wagemans (7) constatent que tous les Bactériophages ne résistent pas également à la chaleur, que cette différence dépend de la provenance du Bactériophage et non de la bactérie lysée (nous verrons qu'on peut en faire un argument en faveur du Bactériophage). Bruynoghe et Wagemans attribuent cette variabilité dans les températures de destruction à la

(1) The Lancet, 1915, p. 1241.
(2) C. R. Soc. de Biol., t. LXXXV, 1921, p. 882.
(3) C. R. Soc. de Biol., t. LXXXV, 1921, p. 1011.
(4) C. R. Soc. de Biol., t. LXXXV, 1921, p. 1122.
(5) C. R. Soc. de Biol., t. LXXXVI, 1922, p. 736.
(6) C. R. Soc. de Biol., t. LXXXVII, 1922, p. 1089.
(7) C. R. Soc. de Biol., t. LXXXVII, 1922, p. 1253.

multiplicité des Bactériophages (1). D'ailleurs Tchang-Kouo-Ngen et Wagemans font observer que la résistance à la chaleur ne se maintient pas forcément constante pour une même souche (2).

Nous n'avons rapporté ces détails que pour montrer, par un exemple, quelles difficultés soulève la moindre discussion relative au problème étudié, et de quelle incertitude sont la plupart des arguments invoqués : chacune des deux écoles fait appel à la température de destruction pour renforcer sa thèse ; or, sur le chiffre même de cette destruction, personne n'est d'accord, et certains prouvent qu'on ne peut pas l'être, en avançant la notion de la multiplicité des Bactériophages ! On doit renoncer à appuyer une théorie sur des bases aussi fragiles.

3° Action des rayons ultra-violets.

Les microbes sont très sensibles à l'action des rayons ultra-violets. Or, Appelmans (3) et Zoeller (4) détruisent facilement l'activité du principe par l'action de ces rayons : ce serait un argument en faveur du Bactériophage, puisque les diastases, si elles sont détruites par ces rayons, le sont plus lentement que les microbes *.

(1) Bull. de l'Acad. royale de méd. de Belgique, juin 1923.
(2) C. R. Soc de Biol., t. LXXXVIII, 1923, p. 303.
(3) C. R. Soc. de Biol., t. LXXXVI, 1922, p. 508.
(4) C. R. Soc. de Biol., t. LXXXIX, 1923, p. 850.
* A rapprocher l'observation de Brutsaert (*Ibid.*, t. LXXXIX, 1923, p. 90) : le principe actif n'est pas détruit par le radium ; il se comporte à cet égard comme un microbe.

4° Action des antiseptiques.

Le fait que le précipité déterminé dans le bouillon par l'acétone entraînait le principe actif, et que ce précipité acétoné se conservait dans l'acétone, portait Kabeshima (1) à penser qu'un tel principe ne pouvait être un ultra-virus vivant.

D'Hérelle répondit (2) que l'acétone était souvent contaminé par les spores du B. subtilis qui s'y conservaient vivantes.

Le principe bactériolysant résiste 4 jours au bichlorure de mercure à 1 p. 200 et au sulfate de cuivre à 1 p. 100, 7 jours à l'acide phénique à 1 p. 100. Il n'est pas tué par un séjour d'une semaine dans un liquide saturé d'essence de thym ou de girofle. Il n'est tué ni par le fluorure de sodium, ni par le chloroforme. Evidemment cette résistance à certains antiseptiques fait mettre en doute sa nature vivante.

D'Hérelle (*ibid.*) fait à cette remarque plusieurs objections : d'abord, certains microbes peuvent résister à des antiseptiques auxquels d'autres succombent ; il y a des formes de résistance ; certaines levures, les B. dysentériques et le B. coli peuvent même s'accoutumer au fluorure de sodium à 1 p. 100. Ensuite, le Bactériophage, très résistant à certains antiseptiques, se montre très sensible vis-à-vis d'autres antiseptiques comme la quinine (3), dès le taux de 1 p. 100, et la glycérine concen-

---

(1) C. R. Soc. de Biol., t. LXXXIII, 1920, pp. 219 et 472.

(2) *Ibid.*, p. 248, et le Bactériophage (Masson, 1921), p. 92.

(3) **Eliava** et **Pozerski**. C. R. Soc. de Biol., t. LXXXV, 1921, p. 139.

trée (1). Or, la quinine n'a aucune action sur les diastases, ni sur les toxines, et la glycérine constitue pour elles le meilleur liquide de conservation.

On pourrait répondre que les autres ultramicrobes connus résistent en général à la glycérine; il est vrai que le principe lysant peut s'y accoutumer.

Enfin, pour ce qui est de l'action de l'éther et de l'alcool, nous avons déjà rapporté l'opinion de d'Hérelle.

§ 5. — CONSÉQUENCES

L'étude des proportions, du milieu de culture, de l'action des agents physiques ou chimiques, ne permet pas d'affirmer que le principe bactériolysant soit une diastase, mais elle ne permet pas non plus de conclure que ce principe soit un être vivant : la discussion reste ouverte.

La nature diastasique du principe n'étant pas démontrée, son origine bactérienne ne l'est pas.

Mais il est évident que, si l'on pouvait prouver son origine bactérienne, tout porterait à croire à sa nature diastasique.

---

(1) **Bablet**. C. R. Soc. de Biol., t. LXXXIII, 1920, p. 1322.

CHAPITRE II

LE PIÈGE DE LA GÉNÉRATION SPONTANÉE

Parmi les propriétés de l'être vivant, il en est une qui, depuis les travaux de Pasteur, s'impose si fortement à l'esprit des biologistes que toutes les autres semblent devoir s'effacer devant elle : c'est *l'impossibilité de la génération spontanée*, et les bactériologistes actuels ne semblent pas disposés à rallumer la discussion sur cette question.

Si donc on pouvait faire apparaître la bactériolyse transmissible en un milieu où l'on fût sûr de n'avoir point mis de principe actif, on se trouverait en face du dilemme suivant :

Ou bien l'on admet la génération spontané, et l'on peut soutenir que le principe actif, spontanément apparu, est un être vivant distinct des bactéries, c'est-à-dire autonome.

Ou bien l'on nie la génération spontanée, et l'on est forcé de croire que le principe actif n'est pas un être vivant autonome; or, comme ses propriétés exigent qu'il

ait été produit par un être vivant, on en conclut que ce principe actif est un *dérivé des bactéries* (seuls êtres vivants du milieu d'expérience). De là à en faire une diastase bactérienne, il n'y a qu'un pas.

Toute une série de travaux ont été effectués, pour chercher si, dans certains cas, le principe actif ne naîtrait pas en un milieu certainement indemne de ce même principe actif.

Il nous semble curieux que, de tous les expérimentateurs qui ont opéré dans ce sens, aucun n'ait prononcé ces mots de génération spontanée ; pourtant, consciente ou subconsciente, cette idée semble avoir dirigé leurs travaux.

L'expérience fondamentale de d'Hérelle comporte deux temps : dans un premier temps, on met en contact des bactéries émulsionnées dans du bouillon et quelques gouttes du filtrat d'un bouillon où, 24 heures auparavant, ont été introduites des matières fécales. Dans un second temps, on met au contact de bactéries émulsionnées, quelques gouttes du filtrat du tube précédemment lysé.

On peut dire que le filtrat du tube Bouillon + Matières fécales constitue un *facteur de déclanchement*. Si Bactériophage il y a, il doit être contenu dans le facteur de déclanchement.

Pour étudier les conditions d'apparition du phénomène, il fallait donc étudier les facteurs de déclanchement.

D'Hérelle avait affirmé *l'origine intestinale* du Bactériophage. Trouvé d'abord chez les convalescents de

dysenterie (1), il était bientôt reconnu hôte normal de l'intestin (2).

Sa présence dans le sol, dans l'eau (3), s'expliquait par la souillure fréquente de ces milieux par les déjections. Wagemans le trouvant dans sa propre salive fait remarquer qu'il manipule constamment le Bactériophage.

Rien jusque-là ne prouvait que le Bactériophage ne fût pas d'origine intestinale.

Mais d'Hérelle s'adressait à un matériel extrêmement complexe pour déclancher la lyse ; les matières fécales, mélange de microbes, de leucocytes, de ferments digestifs, de résidus de la digestion..., etc...

Ne pouvait-on pas déclancher la lyse avec l'un de ces divers éléments puisé en dehors du contenu intestinal ?

§ 1. — FACTEURS DE DÉCLANCHEMENT NON PURIFIABLES

1° Exsudat péritonéal.

Frappés de la richesse en leucocytes des selles de dysentériques, Bordet et Ciuca (4) se demandent si les leucocytes ne pourraient pas constituer un facteur de déclanchement. Ils opèrent sur le B. coli, injectent de ce microbe dans le péritoine d'un cobaye, extraient l'exsudat péritonéal très riche en leucocytes et ajoutent

(1) C. R. Acad. des Sc., t. CLXV, 1917, p. 373.

(2) C. R. Acad. des Sc., t. CLXVII, 1918, p. 970.

(3) **Dumas**. C. R. Soc. de Biol., t. LXXXIII, 1920, p. 1314 ; **Wagemans**. Bull. de l'Acad. royale de méd. de Belgique, juin 1923, p. 159 ; **Hauduroy**. C. R. Soc. de Biol., t. LXXXVIII, 1923, p. 1084.

(4) C. R. Soc. de Biol., t. LXXXIII, 1920, p. 1293.

cet exsudat à une émulsion de B. coli normal ; ce mélange est mis à l'étuve pendant 24 heures ; une petite quantité de ce mélange portée dans une nouvelle émulsion de B. coli clarifie cette émulsion ; la lyse obtenue est transmissible.

Le phénomène a été déclanché à partir des *leucocytes péritonéaux*.

Gratia (1) répète cette expérience avec le staphylocoque, Wollstein (2) avec le B. de Shiga.

Nous réalisons une expérience semblable à partir des leucocytes d'un exsudat péritonéal aseptique (provoqué par injections irritantes : voir Division III) (3).

D'Hérelle (4) répond qu'à la faveur de l'irritation péritonéale, le Bactériophage a passé de l'intestin dans le péritoine, que le phénomène observé par Bordet est inconstant, mais qu'il se produit à coup sûr si le cobaye en expérience a préalablement ingéré du Bactériophage.

Pourtant Bordet, dans son expérience, n'avait pu déclancher la lyse en partant du contenu intestinal des cobayes.

2° Ferments digestifs.

Bachmann et Aquino (5) emploient avec succès, comme facteur de déclanchement, *la bile*. *Nous obtenons* (6) *un résultat semblable* sur le B. de Shiga à partir de bile de

(1) C. R. Soc. de Biol., t. LXXXVI, 1922, p. 276.
(2) Journal of experim. med., 1921, n° 5.
(3) **Lisbonne, Boulet** et **Carrère**. C. R. Soc. de Biol., t. LXXXVI, 1922, p. 340.
(4) C. R. Soc. de Biol., t. LXXXV, 1921, p. 767.
(5) C. R. Soc. de Biol., t. LXXXVI, 1922, p. 1108.
(6) Mémoire inédit, juin 1922 (Fac. de méd. de Montpellier).

chien recueillie aseptiquement par fistule du cholédoque. Pico (1) déclanche la lyse avec la trypsine et la pancréatine commerciales. Joeten (2) confirme ses expériences.

Mais Flu (3), Borchardt (4), Rœst et Pondmann (5) mettent ces résultats en doute. D'autre part, Combiesco (6) réplique que « l'on ne peut pas éliminer la possibilité d'une souillure par le contenu intestinal », ces ferments ne pouvant être stérilisés par la chaleur sans perdre leurs propriétés de facteurs de déclanchement.

Donc, à cette première série d'expériences (1° et 2°), les partisans du Bactériophage pourront toujours objecter que le Bactériophage de l'intestin a pu contaminer le facteur de déclanchement, recueilli trop près de l'intestin*.

Il fallait le recueillir plus loin.

3° Leucocytes recueillis loin de l'intestin, et extraits d'organes.

C'est alors que nous avons entrepris toute une série d'expériences (7) [*dont nous donnerons le détail à la Di-*

(1) C. R. Soc. de Biol., t. LXXXVI, 1922, p. 1106.
(2) Centralblatt f. Bakt., t. 89, p. 20.
(3) C. R. Soc. de Biol., t. LXXXIX, 1923, p. 970.
(4) Zeitschr. f. Immunitätsforschung. Orig., t. 37, h. 1-2, p. 20.
(5) Thèse de Leyde, 1923.
(6) C. R. Soc. de Biol., t. LXXXVII, 1922, p. 17.
(7) Mémoire inédit cité, juin 1922 ; **Lisbonne. Boulet** et **Carrère**. Soc. Sc. méd. de Montpellier, 1922, p. 229, et C. R. Soc. de Biol., t. LXXXVI, 1922, p. 340.

* Pourtant Pico (C. R. Soc. de Biol., t. LXXXIX, 1923, p. 753) objecte que la pancréatine déchaîne la lyse, puis, si on la laisse au contact du principe lysant, détruit ce principe : elle ne saurait donc le véhiculer avec elle. Wollman (C. R. Soc. de Biol., t. XC, 1924, p. 59) fait des constatations semblables avec la trypsine.

vision III de cette Première Partie] qui nous ont permis de déclancher la lyse transmissible du B. de Shiga, en partant de leucocytes prélevés dans des régions éloignées de l'intestin (abcès aseptiques sous-cutanés, épanchements pleuraux), et en mettant ces leucocytes au contact des bactéries, *in vitro*.

D'Hérelle (1) nous a répondu : le Bactériophage peut être accidentellement phagocyté, donc se trouver temporairement dans les leucocytes, bien que le fait semble très rare. Or le fait nous a semblé presque constant.

Un argument semblable à celui de d'Hérelle peut être opposé aux expériences d'A. Kuttner (2) qui déclanche la lyse à partir d'extraits d'organes : Appelmans (3) prétend que les organes normaux ne déclanchent pas le phénomène, que le Bactériophage ingéré ne passe pas dans les organes, mais que, si l'on injecte du Bactériophage, on le retrouve dans la rate 15 jours après l'injection.

4° **Antagonisme microbien.**

Lisbonne et Carrère (4) obtiennent la lyse transmissible du B. de Shiga en laissant vivre, dans le même bouillon, le B. coli et le B. de Shiga, ou le B. proteus et le B. de Shiga (5). Après avoir émis l'hypothèse que le phénomène pouvait se déclancher par antagonisme microbien, ils élargissent leurs conceptions, car ils cons-

---

(1) C. R. Soc. de Biol., t. LXXXVI, 1922, p. 477.
(2) Proceed f. exper. biol. a. med., t. XVIII, 1921, p. 222.
(3) C. R. Soc. de Biol., t. LXXXV, 1921, p. 722.
(4) C. R. Soc. de Biol., t. LXXXVI, 1922, p. 569.
(5) C. R. Soc. de Biol., t. LXXXVIII, 1923, p. 725.

tatent que les cultures filtrées de B. coli sont capables de déclancher la lyse du B. de Shiga.

D'Hérelle (1) répond que les B. coli employés devaient être des cultures mixtes de B. coli et de Bactériophage, des B. coli souillés de Bactériophage (bien que ces B. coli n'aient pas été d'origine intestinale).

Tous les facteurs de déclanchement étudiés jusqu'ici ne peuvent être stérilisés par la chaleur qui détruit leurs propriétés. Or, le principe bactériolysant étant répandu dans la nature, on ne peut affirmer que ces facteurs n'aient pas été, au préalable, souillés par ce principe*. Rien ne s'oppose, dès lors, à ce que l'on se rattache à l'hypothèse du Bactériophage, apporté dans le 1er tube d'expérience par le facteur de déclanchement.

§ 2. — DÉCLANCHEMENT SANS FACTEUR ÉTRANGER

Puisque aucun de ces facteurs de déclanchement n'est à l'abri d'une souillure possible, ne pourrait-on pas se passer de facteur de déclanchement étranger à la culture bactérienne? C'est ce qu'ont tenté de faire de nombreux auteurs.

Gratia (2), Bruynoghe et Maisin (3), Weinberg et Aznar (4), Otto et Winhler (5), Bail (6), obtinrent, soit

(1) C. R. Soc. de Biol., t. LXXXVI, 1922, p. 663.
(2) C. R. Soc. de Biol., t. LXXXVI, 1922, p. 1106.
(3) C. R. Soc. de Biol., t. LXXXV, 1921, p. 1118.
(4) C. R. Soc. de Biol., t. LXXXVI, 1922, p. 833.
(5) Deutsch. med. Wochenschr., 24 mars 1922.
(6) Wien. klin. Wochenschr., 15 mai 1921.

* Cet argument est encore valable pour interpréter l'expérience de Bachmann et Aquino (C. R. Soc. de Biol., t. LXXXVI, 1922, p. 1108) : déclanchement de la lyse à partir du venin de Lachesis alternatus.

des lyses spontanées (2 et 3, p. 11), soit des lyses à partir du filtrat de vieilles cultures, et toutes ces lyses étaient transmissibles en série*. Ici, aucun facteur étranger n'avait été ajouté à la culture ; le déclanchement s'est produit à partir de la bactérie elle-même : l'agent de déclanchement étranger, accusé précédemment d'avoir apporté avec lui le Bactériophage, n'existait plus.

D'Hérelle répond à cet argument par la théorie des *cultures symbiotiques* (1). Les microbes qui, après la lyse, peuvent donner une culture secondaire, sont des résistants (2) : ils peuvent néanmoins être parasités. On connaît l'exemple identique des myxobactéries, symbiose du myxomyces et d'une bactérie (3). La symbiose d'un microbe résistant et du Bactériophage actif pour cette espèce microbienne se poursuit indéfiniment par repiquages en masse, sans que la lyse apparaisse. Mais, à un moment donné, l'équilibre peut être rompu en faveur du Bactériophage, et la lyse se produire, *spontanée en apparence*. D'ailleurs, les souches parasitées peuvent être purifiées par repiquages en colonies isolées, certaines colonies se trouvant exemptes de Bactériophage.

Les souches qui ont servi à déclancher le phénomène sont donc accusées d'être déjà parasitées de Bactériophage.

Notons que les B. coli de Lisbonne et Carrère, ceux

---

1) Le Bactériophage (Masson, 1921), p. 55 ; C. R. Soc. de Biol., t. LXXXIV, 1921, p. 384, et t. LXXXVI, 1922, p. 663 ; et Revue de Pathol. comparée, oct. 1923, p. 604.

(2) C. R. Soc. de Biol., t. LXXXIII, 1920, p. 97.

3) **Pinoy**. Ann. de l'Inst. Pasteur, t. 21, 1907, pp. 621 et 686.

* Malfitano (C. R. Acad. des Sc., 1900, 2, p. 295) avait déjà vu que le filtrat de charbon autolysé par vieillissement était capable de lyser une nouvelle culture de charbon. Carrère a repris cette expérience et l'a confirmée, mais il n'a pu obtenir la transmission de la lyse en série (1922).

qui avaient déclanché la lyse transmissible du B. de Shiga, représentaient également, pour d'Hérelle, une culture symbiotique. Or, il est arrivé à ces B. coli une bien singulière aventure : suivons-les dans leurs pérégrinations.

§ 3. — FACTEURS DE DÉCLANCHEMENT PURIFIÉS

1° Purification sans la chaleur.

Beckerich et Hauduroy (1) prétendirent que les B. coli de Lisbonne et Carrère devaient être parasités. Lisbonne et Carrère leur envoyèrent les souches : Beckerich et Hauduroy les vérifièrent et affirmèrent que l'une d'entre elles n'était pas parasitée.

Or, refaisant leurs expériences, Lisbonne et Carrère obtinrent la lyse transmissible du B. de Shiga (2).

Beckerich et Hauduroy répondirent (3) *que le B. de Shiga lui-même aurait pu être parasité : c'était là le dernier argument de la défense.*

Non, répliquèrent Lisbonne et Carrère, car le contact du V. cholérique, du staphylocoque, du pyocyanique, ne provoquaient pas la lyse de ce même B. de Shiga (4).

Or, le même B. coli fut envoyé à Bordet qui (sans admettre l'hypothèse du Bactériophage), voulait vérifier si ce B. coli était normal ou modifié. Bordet trouva que, pris en masse, ce B. coli déclanchait la lyse du B. de Shiga ; mais, le repiquant en colonies isolées, il sépara des colonies capables et des colonies incapables de dé-

(1) C. R. Soc. de Biol., t. LXXXVI, 1922, p. 881.
(2) C. R. Soc. de Biol., t. LXXXVII, 1922, p. 1011.
(3) C. R. Soc. de Biol., t. LXXXVII, 1922, p. 1124.
(4) C. R. Soc. de Biol., t. LXXXVIII, 1923, p. 725.

clancher la lyse (1). Donc ce B. coli renfermait des éléments modifiés lysogènes et des éléments normaux : mais les B.coli normaux ne déclanchaient pas la lyse.

Or, voici que ces éléments normaux, conservés et repiqués plusieurs fois pendant des mois, donnent *spontanément* des colonies modifiées capables de lyser le B. de Shiga (2) : des bactéries *purifiées* deviendraient-elles spontanément lysogènes (3) ?

Ici encore, *un seul argument* reste à la défense du Bactériophage : *la bactérie qui est soumise à la lyse est une culture symbiotique*. Le même argument est d'ailleurs valable pour toutes les expériences précédentes (4). C'est ce que Podmann (5) a objecté au sujet de l'action des ferments protéolytiques, mais Pico obtient la lyse avec des cultures non spontanément lysables (6).

2° Purification par la chaleur.

Cet argument ultime reste le seul que l'on pourrait invoquer pour expliquer, tout en admettant l'existence du Bactériophage, et en niant sa génération spontanée, les expériences dans lesquelles le *facteur de déclanchement* aurait été *stérilisé par la chaleur ;* or ces expériences ont été réalisées.

Botez (7) obtenait la lyse transmissible par action du violet de méthyle (que l'on peut préparer avec de l'eau

---

(1) C. R. Soc. de Biol., t. LXXXVIII, 1923, p. 1211.
(2) C. R. Soc. de Biol., t. XC, 1924, p. 96.
(3) **Lisbonne** et **Carrère**. C. R. Soc. de Biol., t. XC, 1924; p. 265.
(4) **D'Hérelle**. C. R. Soc. de Biol., t. LXXXVI, 1922, p. 665.
(5) **Flu**. C. R. Soc. de Biol., t. LXXXIX, 1923, p. 970.
(6) C. R. Soc. de Biol., t. XCI, 1924, p. 31.
(7) C. R. Soc. de Biol., t. LXXXV, 1921, p. 585.

stérilisée) sur le B. diphtérique, le B. pseudo-diphtérique, le charbon, le B. de Shiga ; il est vrai que Depla (1) refaisant ces expériences obtient une lyse non transmissible.

Pico (2), par action sur les microbes d'un extrait végétal, la *papaïotine*, *préalablement stérilisée par chauffage à 100°*, obtient leur lyse transmissible.

Le même auteur (3) chauffe du B. anthracis sporulé à 95° pendant 1 heure : les spores résistent, mais sont certainement stériles de Bactériophage. Ces spores sont ensemencées sur gélose ; la culture est émulsionnée dans l'eau salée : après 6 jours elle est devenue capable de déclancher la lyse transmissible.

Pour que l'expérience eût été à l'abri de tout reproche*, il aurait fallu soumettre à la lyse des bactéries descendant de spores chauffées. De même, pour les expériences de Botez et de la papaïotine chauffée, on pourra toujours objecter :

Le facteur de déclanchement n'a pas véhiculé de Bactériophage, *mais ce Bactériophage vivait en symbiose avec les bactéries soumises à la lyse.*

Grâce à cet argument, le Bactériophage échappe à coup sûr au piège de la génération spontanée, car le phénomène ne pouvant se déclancher *que sur des microbes vivants*, et la température de destruction de ces microbes étant inférieure à la température de destruction du principe actif, il semble difficile de prouver que ces microbes ne sont pas déjà souillés de ce principe.

---

(1) Bull. Acad. roy. de méd. de Belgique, juin 1923, p. 223.

(2) C. R. Soc. de Biol., t. LXXXVI, 1922, p. 1106.

(3) C. R. Soc. de Biol., t. LXXXVII, 1922, p. 836.

* Et encore ne pourrait-on pas supposer une forme du Bactériophage aussi résistante que la spore ?

Tant que nous n'aurons pas de critérium absolu de la pureté de nos souches microbiennes, il sera impossible, par la simple étude des facteurs de déclanchement, de dire si le principe qui naît dans l'émulsion microbienne vivante est engendré par les microbes, ou si, autonome, il est engendré par un principe semblable à lui-même vivant en symbiose avec ces microbes.

§ 4. — CONSÉQUENCES

En échappant au piège, le Bactériophage a été singulièrement défiguré : nous ne reconnaissons presque plus l'ultravirus intestinal de 1918.

Il faut maintenant le supposer capable d'habiter non seulement l'eau, le sol (tous milieux que peuvent souiller les matières fécales), non seulement le péritoine, les ferments digestifs qui peuvent encore être souillés par le voisinage du tube intestinal, mais encore les leucocytes, les extraits d'organes, les extraits végétaux, les venins, le B. coli des urines ou des eaux, les divers microbes de nos cultures de laboratoire.

A cela d'Hérelle répond (1) :

« Qu'on trouve dans la nature des souches bactériennes renfermant le principe bactériophage, qu'on rencontre ce Bactériophage dans le péritoine, dans le sang, qu'il puisse y en avoir dans le pus d'un abcès, dans un tissu ou un organe quelconque, qu'est-ce que cela peut signifier ?

» Ces arguments indirects sont-ils incompatibles avec l'existence d'un être vivant? »

---

(1) Revue de Pathol. comp., oct. 1923, p. 608.

Les adversaires du Bactériophage n'ont pu démontrer que le Bactériophage, pour exister, devrait naître par génération spontanée. Leurs tentatives de fournir un *argument direct* ont échoué : tels qu'ils sont à l'heure actuelle, leurs ***arguments sont indirects.***

Le terrain était libre devant d'Hérelle : il allait essayer de donner, lui, une preuve décisive.

CHAPITRE III

LES ARGUMENTS MAJEURS DE D'HÉRELLE

D'Hérelle a réfuté un à un les arguments de la théorie diastasique : on ne peut pas prouver que le principe actif soit une diastase ; on ne peut pas prouver sa génération par les bactéries. Ces réfutations n'ont que la valeur d'arguments négatifs.

D'Hérelle prétend fournir des arguments positifs, et démontrer que le principe bactériolysant possède *toutes les propriétés d'un être vivant, et d'un être vivant autonome, c'est-à-dire distinct des bactéries lysées.*

Ces arguments, nous les appellerons arguments majeurs de d'Hérelle. Ils sont au nombre de trois :

Un être vivant se présente sous l'aspect d'une masse *limitée :* cette limite sépare un milieu intérieur, qui est l'être vivant lui-même, du milieu environnant (milieu extérieur). Si cet être vivant est très petit, nous disons qu'il forme un *corpuscule.*

Mais évidemment tout corpuscule n'est pas un être vivant : la substance de l'être vivant est *spécifique*, dis-

tincte de la substance du milieu extérieur ; l'individualité de l'être vivant n'est pas seulement spatiale, elle est substantielle. Or, la substance vivante se détruit et se reconstruit constamment ; bien plus, l'être vivant est capable de s'accroître et de se multiplier ; il doit donc emprunter des matériaux au milieu extérieur. Pour conserver son individualité substantielle, il doit remanier sans cesse ces matériaux : *il assimile* certains éléments du milieu extérieur en les transformant en sa propre substance. L'être vivant ne peut garder son *autonomie* que grâce à l'*assimilation*. Réciproquement, dit d'Hérelle, tout corpuscule qui possède cette faculté d'assimilation doit être qualifié d'être vivant. Si l'on peut prouver qu'un corpuscule assimile la substance de la bactérie pour en faire une substance-corpuscule spécifique, ce corpuscule est un *être vivant autonome*.

Enfin, l'être vivant, tout en gardant son individualité spatiale et substantielle, est capable de s'adapter, dans une certaine mesure, aux variations défavorables du milieu extérieur. Ici encore, pour d'Hérelle, seuls les êtres vivants sont susceptibles de *s'adapter*.

§ 1. — LE PROBLÈME DU CORPUSCULE

1° Peut-on voir le Bactériophage ?

La notion la plus grossière que nous ayons de l'être vivant nous est donnée par notre sens de la vue : un être vivant forme, avons-nous dit, une masse individualisée.

Il est évident que si nous avions pu voir le Bactériophage au microscope, la question aurait été fort avancée *.

Ce que nous ne pouvons voir au microscope, d'Hérelle prétend l'avoir observé à l'ultramicroscope (1) : les bactéries soumises à la lyse prendraient une forme sphérique, se bourreraient de points réfringents qui augmenteraient rapidement de nombre ; puis, la bactérie éclatant, les points réfringents seraient libérés.

Nous sommes étonné que cette observation n'ait pas donné lieu à des discussions spéciales. D'Hérelle lui-même n'est pas revenu sur cette question.

2° Peut-on voir ses colonies et les numérer ?

Il est logique d'admettre que les colonies d'un virus invisible puissent être visibles **. Ces colonies de Bactériophage, personne ne les a jamais vues.

Mais d'Hérelle a réalisé une expérience qui lui a fourni l'un de ses premiers arguments (2) :

Si on ensemence sur gélose un mélange de bactéries et de principe actif pour ces bactéries, deux résultats peuvent être obtenus.

Si le principe est assez abondant, la bactérie ne se développe pas.

---

(1) C. R. Soc. de Biol., t. LXXXIV, 1921, p. 339, et Le Bactériophage (Masson, 1921), p. 45.

(2) C. R. Acad. des Sc., t. CLXV, 1917, p. 373, et Le Bactériophage (Masson, 1921), pp. 13 et 30.

* Salimbeni (C. R. Soc. de Biol., t. LXXXIII, 1920, p. 1545, et C. R. Acad. des Sc., t. CLXXI, 1920, p. 1240) crut découvrir une forme visible du Bactériophage, le Myxomyces shigaphagus, retrouvé par Pettit (C. R. Soc. de Biol., t. LXXXIV, 1921, p. 339). Ce microorganisme, à pléiomorphisme considérable, présentait une forme végétative visible à l'œil nu. Salimbeni supposait qu'il donnait des spores capables de traverser une bougie Chamberland L_3. On reconnut, par la suite, qu'il s'agissait d'une souillure accidentelle.

** Comme c'est le cas pour le microbe de la péripneumonie bovine.

Si le principe est assez dilué, on constate que la culture bactérienne se produit, mais la nappe qu'elle forme est parsemée de *plages de lyse*, plus ou moins nombreuses, véritables solutions de continuité formant çà et là des taches dépourvues de culture.

Pour d'Hérelle, chaque plage correspond à une *colonie de Bactériophage* : la colonie n'est pas visible, mais l'emplacement qu'elle occupe peut être délimité. D'Hérelle ajoute que l'on peut ainsi déceler un Bactériophage alors même que son activité n'est pas suffisante pour assurer de façon appréciable la lyse en milieu liquide. Cette méthode des plages permet en outre de *numérer* les Bactériophages d'une dilution donnée.

Le phénomène des plages a pu être vérifié par tous les auteurs qui l'ont cherché ; autorise-t-il à affirmer la nature vivante du principe actif ?

Un ferment soluble, dit d'Hérelle (1), ne saurait concentrer son action sur des points définis ; un ferment figuré agit là où il est déposé.

Gratia (2) réplique : la culture passible de lyse n'est pas homogène, elle contient des éléments diversement aptes à subir la lyse ; les plages se forment au niveau des germes les plus réceptifs. C'est également l'opinion de Bordet (3).

D'Hérelle répond par deux expériences (4) : le nombre des plages ne dépend pas du nombre des bactéries aptes à subir la lyse car il n'augmente pas quand on augmente le nombre des bactéries étalées ; il dépend,

---

(1) Le Bactériophage (Masson, 1921), p. 102.

(2) C. R. Soc. de Biol., t. LXXXV, 1921, p. 251.

(3) C. R. Soc. de Biol., t. LXXXVII, 1922, p. 987.

(4) Le Bactériophage (Masson, 1921), p. 102, et C. R. Soc. de Biol., t. LXXXIV, 1921, p. 908.

au contraire, de la quantité de Bactériophage ajoutée aux bactéries ; ce nombre est proportionnel à cette quantité.

D'Hérelle considère cet argument comme absolu : « Cette expérience, à elle seule, suffirait à démontrer que le Bactériophage est un ferment figuré. »

Les partisans de l'hypothèse diastasique pourraient objecter que l'aptitude à subir la lyse est, pour la bactérie, une propriété toute relative : elle dépend, pour une bactérie donnée, de la force avec laquelle cette bactérie aura été impressionnée par la diastase. Si le nombre de microbes mélangés à une quantité fixe de diastase est doublé, l'imprégnation de chacun d'eux par la diastase est diminuée de moitié : tel microbe qui était lysable cesse de l'être, et le nombre de plages peut rester identique. Si le principe actif est doublé, le nombre de microbes restant fixe, tel microbe qui était résistant peut cesser de l'être, et le nombre de plages peut être doublé.

Bien que d'une grande valeur, l'argument des plages n'a pu convaincre les adversaires du Bactériophage.

3° Peut-on, par dilution, isoler et compter les Bactériophages ?

Quand on répartit également une quantité x de diastase dans 10 tubes semblables de liquide, chacun de ces 10 tubes contient $x/10$ de diastase. Il existe une valeur de x telle que, x étant actif, $x/10$ ne l'est plus, et cette inactivité se manifeste dans la totalité des 10 tubes.

Quand on répartit uniformément une émulsion homogène de corpuscules contenant y corpuscules, dans 10

tubes semblables de liquide, chacun de ces tubes contient un nombre de corpuscules $y/10$, si y est un multiple de 10. Mais, les corpuscules pendant l'opération étant indivisibles, si y est inférieur à 10, si par exemple $y = 4$, il y aura au moins 6 tubes privés de corpuscules. Si les corpuscules sont des êtres vivants et si le liquide est un milieu de culture favorable, la culture se produira dans 4 tubes au plus : les 6 autres resteront stériles.

Admettons que le principe actif soit formé de corpuscules : leur milieu de culture est constitué par une émulsion de bactéries sensibles ; refaisant l'expérience précitée, on pourra effectuer des dilutions de principe actif telles que la lyse ne se produira pas dans tous les tubes de répartition, mais se produira au moins dans un.

C'est ce que d'Hérelle a réalisé (1).

Cette méthode permet encore de compter les corpuscules. Nous avons vu que cette numération pouvait également être faite par le procédé des plages : d'Hérelle vérifie que les résultats sont concordants.

Cette expérience semble résoudre le problème du corpuscule. D'Hérelle constate que cet argument n'a pas été discuté (2) et lance, à son sujet, un véritable défi. Le défi n'a pas été relevé.

1° Sédimentation par centrifugation.

D'Hérelle (3) avait observé que, par centrifugation, le principe actif était sédimenté.

---

(1) **Appelmans.** C. R. Soc. de Biol., t. LXXXV, 1921, p. 1098 ; **d'Hérelle,** *ibid.*, t. LXXXIX, 1923, p. 231.

(2) Revue de Pathol. comparée, oct. 1923, p. 595.

(3) C. R. Soc. de Biol., t. LXXXIII, 1920, p. 247.

Appelmans (1) contredit ce résultat.

Les expériences sont à reprendre.

La notion de corpuscule, que d'Hérelle considère définitivement acquise, n'a pas reçu de confirmation capable de convaincre les partisans de l'hypothèse diastasique.

D'ailleurs, la forme corpusculaire serait-elle démontrée, il resterait à prouver que ce corpuscule est un *être vivant*. De plus, un corpuscule vivant pourrait n'être qu'une forme filtrante de la bactérie (on connaît des exemples semblables) : le corpuscule bactériophage tel que l'entend d'Hérelle, doit être non seulement vivant, mais *autonome*.

§ 2. — LE PROBLÈME DE L'AUTONOMIE SUBSTANTIELLE : SPÉCIFICITÉ ET ASSIMILATION

Dans l'hypothèse diastasique, le principe actif étant régénérable doit être produit par les bactéries vivantes : c'est un produit bactérien, fragment de la substance même de la bactérie, et ayant gardé la marque de cette substance.

Pour d'Hérelle, au contraire, le Bactériophage possède une *substance propre;* or il se nourrit aux dépens des bactéries : il doit *assimiler* la substance bactérie, la transformer en substance bactériophage. Il peut subir des variations du fait de son alimentation, mais il garde son *autonomie substantielle* qui le différencie constamment de la bactérie sensible (2).

---

(1) C. R. Soc. de Biol., t. LXXXV, 1921, p. 1098.

(2) **D'Hérelle**. Revue de Path. comparée, oct. 1923, p. 610.

Le problème se pose ainsi : le principe actif est-il spécifiquement distinct de la bactérie et garde-t-il sa spécificité au cours des passages de lyse en série ?

1° Méthodes générales.

a) .....On peut chercher si, agissant comme antigènes, la substance du principe actif et celle du microbe sensible sont absolument indépendantes l'une de l'autre.

b) .....Pour étudier l'autonomie et l'assimilation, on prend un principe actif initial capable de lyser deux* microbes**. On détermine à partir de ce principe, et parallèlement, des lyses en série de deux microbes : on obtient deux principes actifs terminaux.

Si ces deux principes terminaux ont gardé des propriétés identiques à celles du principe initial (et ils sont alors identiques tous les deux), c'est que la substance du principe initial s'est conservée malgré les passages sur deux microbes différents : cette substance est *indépendante* du microbe de passage ; on en peut conclure que le principe est autonome et qu'il a assimilé les microbes.

Si, au contraire, le principe initial a donné deux principes terminaux dissemblables, c'est que le passage sur un des microbes, au moins, a modifié le principe initial : *le microbe a réglé cette modification ;* le principe n'est pas autonome et il n'a pas assimilé.

c) .....Contre-épreuve : on prend deux principes ini-

---

* Deux ou plusieurs.

** Deux microbes d'espèce différente, ou deux races ou souches différentes d'une même espèce microbienne.

tiaux différents* capables de lyser un même microbe. On détermine, à partir de chaque principe, et parallèlement, des lyses en série de ce microbe : on obtient **deux principes actifs terminaux.**

Si chaque principe terminal possède encore les propriétés du principe initial correspondant, c'est que la substance de chaque principe initial s'est conservée ; cette substance est *indépendante du microbe ;* les principes **initiaux sont autonomes et ils ont assimilé.**

Si, au contraire, les deux principes terminaux sont identiques, c'est que les deux substances initiales différentes se sont uniformisées en passant sur le même microbe : l'un au moins des deux principes initiaux s'est modifié, et le *microbe a réglé cette modification :* il n'y **a ni autonomie ni assimilation.**

Par ces trois méthodes, d'Hérelle prétend démontrer que le Bactériophage est autonome, qu'il garde ses caractères quand on le nourrit de microbes différents, et que des Bactériophages différents, nourris de la même bactérie, conservent chacun leurs caractères propres.

Etudions les applications de chacune de ces trois **méthodes.**

2° Pouvoirs antigéniques.

Le principe actif, considéré comme antigène, est-il d'une subtance étrangère à la bactérie lysée, ou bien **n'est-il qu'une fraction de cette bactérie ?**

Par injections répétées d'un principe actif à un animal, on obtient la formation, dans le sérum de cet animal,

---

* Nous verrons que les auteurs qui admettent l'unicité du Bactériophage distinguent des souches ou races différentes.

d'anticorps (1). Le sérum de cet animal est devenu neutralisant pour le principe actif : mélangé au principe actif, il le rend inactif *, incapable de bactériolyser.

Mais ce sérum neutralisant a été préparé en injectant à l'animal un filtrat qui contient non seulement le principe actif, mais encore le microbe lysé. Ce sérum contient, outre l'anticorps neutralisant le principe actif, des anticorps pour le microbe (sensibilisatrices, agglutinines... etc...).

Prausnitz (2) prend un tel sérum. Il sature ce sérum par la bactérie homologue (ici : B. dysenteriae) : le sérum perdra ses propriétés antibactériennes. Or, ce sérum conserve ses propriétés neutralisantes pour le principe actif : donc le principe avait déterminé la formation d'anticorps distincts ; principe et bactérie sont deux antigènes indépendants l'un de l'autre ; le principe n'est pas un produit bactérien : *sa substance est autonome.*

3° Un principe actif lysant deux microbes.

On cherche si, après passages parallèles sur chacun de ces deux microbes, les deux principes actifs terminaux sont identiques au principe initial. Pour affirmer cette identité, on se base sur des *caractères* particuliers, et les expériences varieront selon le caractère choisi.

---

(1) **Bordet** et **Ciuca**. C. R. Soc. de Biol., t. LXXXIV, 1921, p. 280.
D'Hérelle et **Eliava**. C. R. Soc. de Biol., t. LXXXIV, 1921, p. 719.
Maisin. C. R. Soc. de Biol., t. LXXXIV, 1921, p. 755.
D'Hérelle. Le Bactériophage (Masson, 1921), p. 113.

(2) Klin. Wochenschr., t. I, 1922, p. 1641.

* Pour d'Hérelle, le Bactériophage n'est pas détruit : son pouvoir est inhibé de façon passagère : c'est la lysine sécrétée par le Bactériophage qui est neutralisée. Pour Bordet, au contraire, le principe actif est définitivement neutralisé.

a) **Activité pour certaines espèces microbiennes.**

Un des caractères du principe actif est de provoquer la lyse transmissible de certaines espèces (ou races) microbiennes, à l'exclusion des autres, l'intensité de l'action vis-à-vis de chaque microbe étant spéciale.

Maitland (1) isole un principe actif à la fois vis-à-vis du B. de Shiga et du paratyphique B. Il effectue 12 passages en série aux dépens du B. de Shiga et constate que les propriétés d'activité du principe n'ont pas varié. Parallèlement il effectue 12 passages aux dépens du Para B : les propriétés d'activité n'ont pas varié davantage. Le principe étant resté identique à lui-même, malgré le passage sur 2 microbes différents, Maitland conclut que ce principe est une entité indépendante de la bactérie.

Il est vrai que Maisin (2) avait rapporté un argument contraire. Un principe actif pour le B. de d'Hérelle et le B. de Shiga subit des passages parallèles sur ces 2 bacilles. Les principes terminaux sont devenus électifs : chacun n'est plus capable de lyser que le bacille sur lequel il est passé. Cependant Maisin (3) reconnaissait que, agissant comme antigènes, les deux principes avaient gardé les mêmes propriétés.

b) **Milieux défavorables.**

Asheshov possède un principe capable de produire la lyse dans un milieu glucosé, malgré l'acidification de ce

---

(1) The Brit. Journal of exp. pathology, t. 3, août 1922, p. 173.
(2) C. R. Soc. de Biol., t. LXXXIV, 1921, p. 468.
(3) C. R. Soc. de Biol., t. LXXXIV, 1921, p. 756.

milieu. Ce principe peut lyser plusieurs bactéries (Flexner, Shiga, typhique) ; on le fait passer parallèlement sur ces divers microbes : il conserve sa propriété (1).

c) **Sérum neutralisant.**

Un principe est apte à lyser deux souches microbiennes. On prépare un sérum neutralisant en injectant à l'animal ce principe actif. Le principe actif subit des passages sur chacune des deux souches microbiennes: on obtient deux principes terminaux. Or, le sérum qui neutralise le principe initial neutralise également les deux principes terminaux. Cette expérience a été réalisée avec des souches de B. typhique par Bruynoghe et Appelmans (2), et avec des souches de staphylocoque par Gratia (3). Wagemans (4) note des exceptions.

4° Deux principes actifs pour un même microbe.

On fait agir ces deux principes actifs, parallèment, sur le microbe sensible. On cherche si chacun de ces deux principes a conservé ses *caractères :* ici encore, les expériences varient selon les caractères choisis.

a) **Caractère d'activité** (5).

Le premier principe, tout en agissant sur un microbe

---

(1) C. R. Soc. de Biol., t. LXXXVII, 1922, p. 1341.
(2) C. R. Soc. de Biol,, t. LXXXVII, 1922, p. 96.
(3) C R. Soc. de Biol., t. LXXXVII, 1922, p. 99.
(1) C. R. Soc. de Biol., t. LXXXVII, 1922, p. 1244, et t. LXXXVIII, 1923, p. 304.
(5) **D'Hérelle**. Revue de Pathol. comparée, octobre 1923, p. 610.

M, sera capable d'agir sur d'autres microbes A, B, C, par exemple.

Le second principe agira aussi sur le microbe M, mais sera capable d'agir sur d'autres microbes D, E, F, G, par exemple.

Faisons de nombreux passages parallèles du premier et du second principe, sur le microbe commun M, et examinons les caractères d'activité des deux principes terminaux : on constate que le principe terminal provenant du premier principe a les mêmes propriétés d'activité que ce premier principe initial ; il est actif pour M, A, B, C. Le principe terminal provenant du deuxième principe initial est identique à ce deuxième principe initial et lyse M, D, E, F, G.

Ce que nous disons de deux principes, on peut le dire de tous les principes capables de lyser M.

Les caractères d'activité ont subsisté, intacts, spéciaux pour chaque principe, malgré les passages répétés de chaque principe sur un seul et même microbe M.

On peut envisager l'activité élective, non seulement pour tel ou tel microbe, mais pour telle ou telle souche d'une même espèce microbienne : cette activité se conserve, pour chaque principe, telle qu'elle était avant les passages sur la même souche M. Janzen et Wolff (1) l'ont montré à propos de trois principes actifs attaquant des souches diverses de typhosus : après douze passages de chaque principe sur une même souche lysable par les trois principes, chaque principe a gardé ses aptitudes spéciales.

De même (2) un principe polyvalent (pour plusieurs

(1) Akademie van Wetenschappen te Amsterdam. Deel 31. 25 février 1922 et Centralblatt f. Bakt. et Parasit. Orig., t. 90, 1923, p. 6.

(2) **D'Hérelle**. C. R. Soc. de Biol., t. XC, 1924, p. 25.

souches de staphylocoque dont M) et un principe monovalent pour M seul, passant tous deux un grand nombre de fois sur M, restent, le premier polyvalent, le second monovalent.

b) **Petites et grandes plages.**

Divers auteurs ont obtenu, actifs pour un même microbe, deux principes voisins, mais dont l'un donnait de petites plages, l'autre de grandes plages (1).

Asheshov (2) isole du contenu intestinal du porc deux principes actifs pour le B. de Flexner, dont l'un produit de grandes plages, l'autre de petites plages. De multiples passages parallèles sont faits, à partir de ces deux principes, sur le même B. de Flexner. Après une série de quinze passages, chaque principe a conservé sa propriété particulière : le premier donne encore de grandes plages, et le deuxième de petites plages.

c) **Destruction par certains agents.**

A partir de deux principes, actifs pour le même microbe, on effectue des passages parallèles sur ce microbe. Chacun des principes conserve, au cours de ces passages, sa résistance particulière à la température et à certains antiseptiques (3). Les deux principes ne se sont donc pas uniformisés par passage sur un microbe unique.

---

(1) **Bail.** Wiener klin. Wochenschr., 1921, nos 20 et 27, 1922, nos 6 et 8; **Gratia.** C. R. Soc. de Biol., t. LXXXIX, 1923, p. 821.

(2) C. R. Soc. de Biol., t. LXXXVII, 1922, p. 1341.

3 **Tchang Kouo Ngen** et **Wagemans.** C. R. Soc. de Biol., t. LXXXVII, 1922, p. 1253; **Bruynoghe** et **Brutsaert.** C. R. Soc. de Biol., t. LXXXVIII, 1923, p. 966.

d) **Sérum neutralisant.**

On part encore de deux principes I et II, actifs pour un même microbe.

Par injections du principe I à un animal, on prépare un sérum neutralisant ce principe I. Ce sérum ne neutralise pas II : c'est le caractère qui sépare I de II. A partir des deux principes actifs I et II on effectue, parallèlement, des lyses en série du microbe unique : on a les produits terminaux 1 et 2.

Or, 1 est neutralisé par le sérum anti I, mais 2 n'est pas neutralisé ; I et II ne se sont donc pas uniformisés lors des passages sur le même microbe : ils sont restés distincts l'un de l'autre.

Bruynoghe et Appelmans (1) ont réalisé cette expérience sur le B. typhique, Gratia et de Namur (2) sur le staphylocoque.

e) **Résistances réciproques.**

I et II sont deux principes actifs pour le même microbe M. Après quelques passages, I est devenu 1 et II est devenu 2.

On sait que l'on peut rendre un microbe résistant à l'action du principe actif (cultures secondaires). Soit donc M' un microbe de la souche M rendu résistant à l'action de I, mais que II peut encore lyser.

On constate que 1 ne peut lyser M' tandis que 2 peut le lyser (3).

---

(1) C. R. Soc. de Biol., t. LXXXVII, 1922, p. 96.

(2) C. R. Soc. de Biol., t. LXXXVII, 1922, p. 364.

(3) **Appelmans** et **Wagemans**. C. R. Soc. de Biol., t. LXXXVI, 1922, p. 758. Dans une première expérience, I et II étaient des principes actifs pour le B. typhique. Dans une deuxième expérience, I et II étaient des principes actifs pour le B. dysentérique.

Le caractère que possédait I de ne plus lyser M', il l'a conservé en passant sur M ; mais, en passant sur M, II n'a pas acquis ce caractère ; bien qu'ayant passé sur le même microbe M, 1 est resté semblable à I, et 2 semblable à II.

Ce n'est pas le microbe qui a imposé sa substance aux principes, car en passant sur un même microbe les deux principes se seraient uniformisés.

Pour rester eux-mêmes, ils ont dû assimiler la substance hétérogène M*.

5° Arguments adverses.

a) Valeur des caractères invoqués.

Nous avons vu (Chap. I, § 1) qu'en modifiant les proportions de microbe et de principe initial, ou leurs temps de contact, Bordet et Ciuca obtenaient à volonté un principe fort ou un principe faible ; ce principe faible se trouve encore dans le halo de diffusion d'une tache de lyse. Cette propriété de faiblesse de l'un des deux principes terminaux est définitive, tandis que le principe fort, isolé par étalement, se montre capable de donner, comme le principe initial, un principe terminal fort et un faible, et ainsi de suite : il suffit d'opérer sur des proportions déterminées.

Ainsi le *caractère d'activité*, sur lequel d'Hérelle s'appuie pour prouver l'autonomie et l'assimilation, peut être modifié, en faisant simplement varier les *proportions* ou les *temps d'action*. Mais il est vrai que jusqu'ici

---

* C'est l'expérience des résistances réciproques, ainsi appelée car une contre-épreuve montre que le microbe M" résistant vis-à-vis de II et de 2, est lysé par I et par 1. Ce n'est donc pas à une différence d'activité entre les principes qu'il faut attribuer les résultats.

les deux principes isolés à partir du principe initial ne diffèrent que par l'intensité de leur action.

Gratia (1) a montré qu'ils différaient bien davantage : le principe faible donne de grandes plages et est détruit à 60°, tandis que le fort est composé d'un mélange du principe faible avec un autre principe : cet autre principe donne de petites plages et est détruit à 70°.

Le caractère de donner de petites ou de grandes plages ne serait donc plus assez stable pour permettre de reconnaître qu'un principe a gardé son autonomie.

Gratia a encore observé que le sérum neutralisant l'un des deux principes (à grandes ou à petites plages) neutralise incomplètement l'autre ; les résultats qu'il obtient avec un principe lysant le B. coli, Watanabe (2) les obtient avec un principe lysant le B. de Shiga.

Les propriétés des sérums neutralisants ne fourniraient plus un critérium certain de l'autonomie.

Enfin, les principes à grandes et à petites plages de Gratia ont chacun leurs résistants, et les résistants de l'un sont lysés par l'autre*.

L'argument des résistances réciproques diminuerait considérablement de valeur.

Ces expériences ébranlent la démonstration que nous avons exposée ; elles sèment le doute sur la valeur des *caractères* qui permettaient de définir la *substance bactériophage*, de prouver qu'elle était autonome, qu'elle *se conservait* au cours des passages ; ces caractères, en

---

(1) C. R. Soc. de Biol., t. LXXXIX, 1923, p. 821.

(2) Zeitschr. f. Immunitäts For., 1923, t. 37, p. 106.

* Ceci explique que le mélange des deux principes, à grandes et à petites plages, constitue un principe fort, puisque, quand des microbes tendent à devenir résistants à l'un, ils sont lysés par l'autre.

effet, sont à la merci d'une modification dans les proportions des matériaux d'expérience.

Il est vrai que l'on pourrait dire : le principe initial est un mélange de deux Bactériophages, l'un à petites plages et l'autre à grandes plages, ou l'un fort et l'autre faible.

Nous avons montré les difficultés auxquelles se heurte une semblable supposition (Chap. I, § 1).

b) **Autre interprétation.**

D'ailleurs, même si l'on ne tient pas compte de ces dernières expériences de Bordet et de Gratia, et si l'on admet que les propriétés invoquées sont assez fixes pour caractériser un principe, pour affirmer qu'il s'est conservé intact au cours de passages multiples, on peut encore raisonner comme le fait Gratia (1) :

Deux principes actifs gardent, malgré le passage sur une même bactérie, leurs caractères individuels ; il se peut que chacun des deux principes, en attaquant la bactérie commune, mette en jeu, dans celle-ci, des éléments différents et détermine ainsi, de sa part, une réponse chaque fois différente et spécifique, ayant pour résultante *la régénération d'un principe diastasique identique à celui qui a agi.*

Il est vrai que les défenseurs du Bactériophage invoquent la *complexité* d'une telle supposition (2) : il faudrait donc, disent-ils, supposer les bactéries capables de libérer *une multitude de produits différents* selon la variété de principe actif qui les aurait attaquées, et les

(1) **Gratia et de Namur.** C. R. Soc. de Biol., t. LXXXVII, 1922, p. 364.
(2) **Asheshov.** C. R. Soc. de Biol., t. LXXXVII, 1922, p. 1341.

produits libérés seraient identiques aux produits de l'attaque !

Nous sommes encore, sur ce point, en pleine période de discussion.

§ 3. — LE PROBLÈME DE L'ADAPTATION

L'adaptation est, selon d'Hérelle (1), l'un des deux grands critères de la vie, l'autre étant l'assimilation.

La propriété essentielle du principe actif est son action lysante : il convient de se demander si ce principe s'adapte de telle façon qu'il puisse devenir capable de lyser une espèce microbienne jusque-là réfractaire. Y a-t-il adaptation à la lyse ?

1° Adaptation à la lyse.

a) D'Hérelle et l'unicité.

Comment d'Hérelle comprend-il l'adaptation du Bactériophage à la lyse ?

D'abord, il soutient l'unicité du Bactériophage (2), et appuie son opinion sur deux arguments :

Une souche de Bactériophage capable de lyser, par exemple, deux microbes aussi éloignés que le staphylocoque et le B. de Shiga conserve, après de nombreux passages sur le staphylocoque, la propriété de lyser le B. de Shiga. Il serait difficile dès lors d'admettre que tel Bactériophage qui ne lyse que le B. de Shiga soit différent de tel autre qui ne lyse que le staphylocoque.

(1) Revue de Pathol. comparée, octobre 1923, p. 613.

(2) Le Bactériophage (Masson, 1921), p. 93.

On pourrait prouver de même que le Bactériophage actif pour le B. coli n'est pas différent de celui qui lyse le B. de Shiga, et ainsi de suite.

Autre argument : le sérum antibactériophage contient une sensibilisatrice spécifique pour le Bactériophage (réaction de Bordet-Gengou : cette sensibilisatrice est la même pour toutes les souches de Bactériophage.

Il n'existerait donc qu'un Bactériophage. Or, une souche de Bactériophage donnée ne manifeste au même moment son action que vis-à-vis d'un seul microbe, ou d'un petit nombre de microbes, et les microbes pour lesquels on a trouvé une souche active sont multiples. Par conséquent, le Bactériophage est susceptible d'acquérir la virulence vis-à-vis de toutes (ou presque toutes) les espèces bactériennes (1) : *il s'adapte.*

Cette affirmation soulève un certain nombre de difficultés :

Nous avons vu que, d'après l'activité vis-à-vis de telle ou telle bactérie, d'Hérelle distingue des souches de Bactériophage : ces souches ne doivent pas répondre à des espèces de Bactériophage différentes, mais à des races d'un même Bactériophage. Comment l'expliquer? Un Bactériophage lyse la bactérie A, un autre la bactérie B. Le premier peut s'adapter à B, le second à A : tous deux lyseront alors A + B : ils seront identiques. Or, pratiquement, cette adaptation ne se fait pas *in vitro*, surtout quand A et B sont des espèces microbiennes éloignées ; d'Hérelle le reconnaît lui-même dans ses expériences sur l'assimilation ; mais il admet qu'elle peut se faire rapidement *in vivo*, dans l'intestin, ou qu'elle arriverait à se faire *in vitro* après de très nombreux

(1) **D'Hérelle.** C. R. Soc. de Biol., t. LXXXIV, 1921, p. 908.

passages. Cette première difficulté ne peut être résolue que grâce à une hypothèse gratuite.

Souscrivons cependant à cette hypothèse : ne devrait-on pas trouver dans le milieu intestinal (ou pouvoir y faire apparaître) des souches actives au même moment pour une quantité de bactéries ? Il n'en est rien. Il doit donc se produire, *in vivo*, une adaptation qui consiste non seulement à acquérir de nouvelles propriétés, mais encore à en perdre d'anciennes : tel Bactériophage qui lysait seulement le microbe A doit devenir capable de lyser le seul microbe B, et vice versa. Par une longue série de cultures, dit d'Hérelle (1), le Bactériophage peut s'adapter à l'*attaque exclusive d'une bactérie.*

Si cela se produisait toujours rapidement, *in vitro* (comme a pu l'observer dans un cas Maisin) (2), qu'en résulterait-il ? Un principe actif qui lysait le seul microbe A deviendrait, par quelques passages sur un microbe B, capable de lyser le seul microbe B. Ce principe aurait acquis une propriété nouvelle, sous la dépendance du microbe B : il y aurait apparence de changement de substance. La substance de B semblerait s'être imposée au principe actif. Ce principe paraîtrait n'avoir pas assimilé le microbe B. Tout se serait passé comme si ce principe n'était pas autonome, et comme s'il était incapable d'assimiler.

Aussi d'Hérelle fait-il remarquer que si le phénomène d'adaptation se produisait rapidement *in vitro*, il pourrait fausser les résultats d'expériences tendant à montrer

---

(1) C. R. Soc. de Biol., t. XC, 1924, p. 25.

(2) C. R. Soc. de Biol., t. LXXXIV, 1921, p. 468.

la constance des propriétés du Bactériophage et, partant, son autonomie (1).

En fait, l'accoutumance *in vitro* doit se produire bien lentement, si lentement... que nous dirions volontiers qu'elle ne se produit presque jamais.

En résumé, on peut raisonner comme suit :

Tout se passe comme si, *in vitro*, le Bactériophage ne s'adaptait pas ; c'est grâce à cela qu'on peut prouver qu'il assimile.

D'autre part, la réaction de Bordet-Gengou, par exemple, prouve l'unicité du Bactériophage.

Pour expliquer que le Bactériophage, être unique, puisse fournir des souches multiples actives pour des combinaisons très diverses de microbes, il faut *admettre* qu'il s'adapte : il ne saurait le faire qu'*in vivo*, dans l'intestin.

On ne prouve pas cette adaptation à la lyse : *on l'admet pour sauvegarder l'unicité.*

b) **Adaptation et pluralité.**

Mais cette théorie de l'unicité n'est pas intangible ; certains partisans de l'ultravirus n'ont pas hésité à la démolir, au risque d'ébranler fortement la notion d'adaptation : Bruynoghe et Wagemans (2) croient à la *pluralité des Bactériophages*. Ils en donnent les preuves suivantes :

Diverses expériences (résistances réciproques, neutralisation par le sérum antiprincipe, persistance des différences de résistance à la température et aux agents chimiques) avaient été invoquées pour prouver l'auto-

(1) C. R. Soc. de Biol., t. XC, 1924, p. 25.

(2) Bull. de l'Acad. roy. de méd. de Belgique, juin 1923.

nomie substantielle d'une souche active (Voir § 2 de ce Chap.) ; elles montrent que des souches actives diverses, quoique passant sur une même bactérie, conservent leurs caractères propres. On en pourra déduire que ces caractères de souche sont tellement individuels qu'ils peuvent être considérés comme spécifiques ; il ne faut plus parler de souches, mais d'espèces multiples de Bactériophages. Il n'y a plus *un*, mais *des* Bactériophages. Wagemans va même jusqu'à décrire des principes complexes renfermant plusieurs espèces de Bactériophages *.

Bruynoghe et Wagemans se trouvent par conséquent sur ce point en contradiction avec d'Hérelle. En partant du sérum anti-Bactériophage, d'Hérelle prouve, par la méthode de fixation de l'alexine, qu'il n'existe qu'un Bactériophage, tandis que Bruynoghe et Wagemans, par la méthode de neutralisation, prouvent qu'il existe de multiples Bactériophages **.

Si l'on n'admet pas l'unicité, il n'est pas besoin de recourir à l'hypothèse de l'adaptation pour expliquer les caractères d'activité différents des diverses souches de Bactériophages.

Bien plus, la pluralité des principes actifs peut servir d'argument aux partisans de la théorie diastasique : si le principe qui lyse le B. coli, par exemple, est absolument différent de celui qui lyse le staphylocoque (c'est

---

* On pourrait rapporter ici les expériences de Gratia sur les principes à grandes et petites plages, apparaissant chacun, à partir d'un principe initial unique, selon les proportions employées : l'hypothèse de Wagemans (principes complexes) interviendrait pour laisser supposer que le principe utilisé par Gratia était un complexe.

** Pour d'Hérelle, le sérum anti neutralise, non pas l'ultravirus, mais seulement ses produits de sécrétion ; de plus, les résultats de l'expérience de Wagemans, sur ce sérum, étant inconstants, leur valeur est discutable (C. R. Soc. de Biol., t. XC, 1924, p. 481).

ce que prétend Gratia) (1), il devient plus facile de penser que ces deux principes sont des produits diastasiques émanant, l'un du B. coli, l'autre du staphylocoque.

Par contre, cette individualité absolue des souches actives peut permettre de soutenir plus fermement encore l'autonomie et la faculté d'assimilation d'un principe donné ; on n'a plus à craindre de voir brusquement changer ses caractères.

La facilité avec laquelle certaines expériences peuvent servir partisans et adversaires du Bactériophage frise presque le paradoxe.

Bruynoghe, en supprimant la nécessité de l'adaptation, par sa conception de la pluralité, va-t-il nous amener à nier cette adaptation ? Il soutient, au contraire, que chaque Bactériophage est capable de s'adapter à la lyse de certains nouveaux microbes.

En effet, si l'adaptation d'un principe, *in vitro*, est rarement réalisée pour des microbes d'espèces éloignées, elle n'est pas une impossibilité. Bruynoghe (2) a rendu un Bactériophage-Coli actif pour un grand nombre de souches paratyphiques et typhiques, par symbiose prolongée. Il a pu, de même que Maisin (3), exalter la virulence d'un Bactériophage pour un germe nouveau, et lui faire perdre sa virulence pour l'ancien.

On peut donc concevoir l'adaptation à la lyse malgré la pluralité des Bactériophages, mais cette conception n'est plus une nécessité ; elle est si rarement observée que l'on n'oserait en faire une propriété du principe actif.

---

(1) C. R. Soc. de Biol., t. LXXXV, 1921, p. 882.
(2) C. R. Soc. de Biol., t. LXXXV, 1921, p. 258.
(3) C. R. Soc. de Biol., t. LXXXIV, 1921, p. 468.

Il est vrai que tous les auteurs ont pu observer que le principe actif était susceptible d'exaltation et d'atténuation au cours des passages en série, fait qui se rapproche singulièrement de l'adaptation, bien qu'il puisse être expliqué par chacune des théories rivales. Beijerick (1) considère pourtant que ce seul fait est suffisant pour affirmer la nature vivante du principe, car une substance inerte ne saurait s'exalter ni s'atténuer.

Il serait facile de répliquer que personne n'a jamais dit que le principe bactériolysant fût comparable à une substance inerte.

2° Autres adaptations.

L'adaptation à la lyse, indiscutable si l'on admet l'unicité du principe, discutable si l'on admet sa pluralité, n'est pas le seul mode d'adaptation dont soit capable ce principe.

La glycérine concentrée détruit le principe (2). Mais, mélangé à la glycérine diluée, il n'est pas détruit ; si on laisse alors évaporer un tel mélange, la glycérine se concentre ; le principe résiste cependant et devient définitivement résistant à l'action de la glycérine concentrée (3). Wolff et Janzen (4) ont accoutumé divers principes à certains antiseptiques. Le principe s'adapte également à l'acidité (5) ; Prausnitz (6) a adapté un principe lysant le

(1) **D'Hérelle**. Revue de Pathol. comp., oct. 1923, p. 612 ; **Beijerick**. Chemisch Weekblad. Amsterdam, 25 novembre 1922.

(2) **Bablet**. C. R. Soc. de Biol., t. LXXXIII, 1920, p. 1322.

(3) **D'Hérelle**. Le Bactériophage (Masson, 1921), p. 92.

(4) C. R. Soc. de Biol., t. LXXXVII, 1922, p. 1087.

(5) **Asheshov**. C. R. Soc. de Biol., t. LXXXVI, 1922, p. 1343.

(6) Klin. Wochenschr., t. I, 1922, p. 1641.

B. de Shiga à résister au sérum neutralisant. Bruynoghe et Wagemans (1) ont répété l'expérience. D'Hérelle l'a confirmée (2) pour un principe lysant le staphylocoque.

On pourrait, pour ces diverses expériences, répéter les objections soulevées à propos de l'adaptation à la lyse : les caractères qui permettraient de soutenir l'autonomie du principe ne sont pas stables ; il semble exister une *contradiction* entre les deux notions d'*autonomie* et d'*adaptation*.

La réponse à ces objections est toujours la même : *in vitro*, l'adaptation se produit avec une telle lenteur, et d'une façon si inconstante, que les propriétés d'un principe actif sont suffisamment stables, *pratiquement*, pour permettre de le caractériser, de le reconnaître, de constater qu'il a une autonomie et qu'il la conserve au cours de divers passages de lyse.

En d'autres termes, les caractères de l'autonomie ne se modifient, pendant les expériences *in vitro*, qu'avec une extrême lenteur; comme tous les êtres vivants, chaque souche de Bactériophage évolue, mais assez lentement pour qu'on puisse lui assigner une race (hypothèse de l'unicité) ou même une espèce (hypothèse de la pluralité) ; il faut faire intervenir la notion de *temps* pour concilier ces deux facteurs en apparence opposés l'un à l'autre ; l'*autonomie* et l'*adaptation*.

§ 4. — BACTÉRIOPHAGE ET BIOLOGIE GÉNÉRALE

D'Hérelle (3) fait reposer son argumentation positive, directe, sur un syllogisme :

---

(1) C. R. Soc. de Biol., t. LXXXVIII, 1923, p. 968.
(2) Revue de Pathol. comparée, oct. 1923, p. 613.
(3) Revue de Pathol. comparée, oct. 1923, p. 608.

Toute substance capable d'*assimiler* en milieu *hétérogène* et de *s'adapter* aux conditions adverses du milieu constitue un être vivant autonome.

Or, le principe bactériolysant possède ces propriétés.

Donc il est un être vivant autonome.

Dès lors tout argument qui ne prouve pas que le principe est dénué des propriétés d'assimilation et d'adaptation est traité d'argument indirect, sans valeur.

Nous avons vu que le problème de l'assimilation soulevait de grosses objections, que la faculté d'adaptation se réduisait considérablement dans l'hypothèse de la pluralité des principes, que la notion d'adaptation atténuait la notion d'assimilation : ces deux propriétés ne semblent pas à l'abri de toute contestation.

Et quand bien même les *caractères* étudiés (activité, résistance au chauffage..., etc...) seraient, pour chaque souche de principe, immuables, constitueraient-ils un critère sûr pour identifier la substance d'une souche ?

La propriété antigénique, caractère spécifique par excellence, a-t-elle fait suffisamment ses preuves pour être à l'abri de toute discussion ?

Admettons néanmoins que le principe soit doué des facultés d'assimilation et d'adaptation. Une question, encore fort obscure, en l'état actuel de la science, reste à résoudre : sommes-nous tellement sûrs de connaître les caractéristiques de la vie ?

Placés en face d'un être vivant visible, nous ne nous y trompons guère. Mais, en face de l'invisible, n'est-il pas imprudent de dire : toute substance qui possède telle ou telle propriété est un être vivant autonome ? Nous connaissons quelques propriétés des êtres vivants visibles ; elles sont nécessaires, semble-t-il, mais sont-elles suffisantes ?

Que les philosophes, s'appuyant sur une Biologie encore bien imparfaite, essaient de définir la vie (et ils ne s'en privent pas), c'est là un effort louable. Mais que les biologistes acceptent les définitions de ces philosophes pour déclarer, sans appel, vivante, une substance qu'ils n'ont jamais vue, cela peut nous paraître un peu téméraire.

Nous sommes obligés d'admettre que les êtres vivants que nous connaissons peuvent assimiler et s'adapter ; mais si l'expérience prouvait que ces propriétés appartiennent également à d'autres substances dénuées de vie*, il faudrait bien que les philosophes s'inclinassent devant les faits.

Le syllogisme de d'Hérelle deviendrait alors incorrect, car sa majeure devrait être ainsi transformée :

« Tous les êtres vivants sont capables d'assimiler et de s'adapter... »

Le grand terme ne serait plus « êtres vivants », mais « assimiler... » La mineure ne pourrait plus être énoncée sous sa forme précédente.

Tout ce que l'on pourrait affirmer, c'est que le principe possède certains des caractères que présentent aussi les êtres vivants connus.

Faut-il d'ailleurs s'étonner de cela, même en acceptant la théorie diastasique ? Ces produits (diastasiques ou comparables à des diastases) ne seraient pas des diastases extraites une fois pour toutes ; elles seraient sans cesse régénérées par des bactéries, par des êtres

---

* Delezenne et Mlle Ledebt (C. R. Acad. des Sc., t. CLXXV, 1922, p. 779) ont montré qu'un suc pancréatique activé, à 0°, par l'entérokinase, possède, lui-même, des propriétés activatrices ; l'activation initiale est transmissible en série, indéfiniment : il y a *apparence* de régénération de l'entérokinase. Cette expérience nous montre avec quelle prudence il faut interpréter toute apparence de régénération en milieu hétérogène.

vivants. Bordet (1) en fait la remarque en ces termes :

« M. Bruynoghe, lorsqu'il fait allusion à la théorie du ferment, semble croire que, dans la pensée de ceux qui la défendent, cette théorie exclut l'intervention de l'activité vitale proprement dite. En réalité, les deux théories, celle du virus de d'Hérelle et celle du ferment, impliquent la participation nécessaire de la vie. Dans la théorie de d'Hérelle, l'organisme vivant qui provoque la lyse est un virus invisible, ultra-microscopique ; dans l'autre théorie, le principe actif est sécrété par la bactérie elle-même : il s'agit d'une autolyse. Les deux théories se rapprochent donc en ce qu'elles impliquent toutes deux un processus vital, et il en résulte assez naturellement que beaucoup de données expérimentales, dans lesquelles une influence vitale se manifeste, peuvent s'expliquer aussi bien par une théorie que par l'autre. »

Ces quelques réflexions nous amènent, logiquement, à exposer de quelle façon précise chacune des deux théories reconstitue les diverses phases du phénomène complexe de la bactériolyse. C'est que nous allons tenter de faire dans la division II de cette première partie.

---

(1) Bull. de l'Acad. roy. de méd. de Belgique, juin 1923, p. 8.

CONCLUSIONS DE LA DIVISION I

Deux hypothèses en présence : Bactériophage vivant autonome, ou diastase sans cesse produite et régénérée par les bactéries.

Les arguments « pour la diastase » sont, un par un, réfutés par d'Hérelle : il ressort de cette discussion que *les faits peuvent être aussi bien expliqués par une hypothèse que par l'autre.*

Le principe actif peut-il *naître spontanément de la bactérie ?* On ne saurait le prouver. *Les deux hypothèses sont encore possibles.*

D'Hérelle, en face de ces deux *hypothèses possibles*, prétend que l'existence du Bactériophage peut se démontrer par des *arguments directs :* le principe actif posséderait les facultés d'assimilation et d'adaptation : sur ce terrain même, il est combattu.

Mais, le principe actif posséderait-il ces deux propriétés, les adversaires du Bactériophage pourraient encore objecter : ces caractères, s'ils sont *nécessaires* à la vie, ne sont pas forcément *suffisants*. De ce que les êtres vivants connus les possèdent, résulte-t-il que toute substance qui en sera douée sera un être vivant autonome ? Et une substance, sans cesse reproduite par un être vivant, ne participe-t-elle pas suffisamment à la vie pour refléter certaines propriétés des êtres vivants ?

Dans l'état actuel des recherches, aucune conclusion ne s'impose irrésistiblement.

DIVISION II

LES SYNTHÈSES

TROIS THÉORIES

CHAPITRE PRÉLIMINAIRE

ANALYSE ET SYNTHÈSE

Toute hypothèse sur la nature du principe actif devait d'abord rendre compte des propriétés multiples de ce principe.

Elle devait ensuite permettre de construire une théorie globale qui fournît une explication claire des diverses phases du phénomène de Twort-d'Hérelle.

Au travail d'*analyse*, qui vient d'être exposé, s'est ajouté un effort de *synthèse*.

Trois théories synthétiques sont actuellement en présence :

La théorie de d'Hérelle, fondée sur l'hypothèse du Bactériophage.

La théorie de Bordet et la théorie des lysines normales, édifiées sur l'hypothèse diastasique.

A ces trois théories principales se rattachent quelques autres conceptions.

CHAPITRE I

THÉORIE DE D'HÉRELLE (1917)

LE BACTÉRIOPHAGE ULTRAMICROBE DES MICROBES

Il existe un ultravirus, être vivant autonome, invisible au microscope, susceptible de parasiter les microbes et de les détruire, véritable ultramicrobe des microbes.

Cet ultravirus forme une espèce unique : *le Bactériophage* (1).

§ 1. — LE CYCLE DE LA LYSE

Des *Bactériophages très actifs* et une émulsion de *bactéries sensibles vivantes* sont placés dans des conditions favorables (milieu de culture liquide, température de 37°...).

Les bactéries se reproduisent pendant un certain temps, puis les Bactériophages pénètrent dans l'intérieur d'un certain nombre de bactéries.

---

(1) **D'Hérelle.** Le Bactériophage (Masson, 1921).

Les Bactériophages *se nourrissent* en assimilant la substance de la bactérie qui devient substance bactériophage. Au sein des bactéries parasitées, ils *se multiplient* rapidement. Ils ne sauraient d'ailleurs se développer en dehors des bactéries vivantes *.

Les bactéries parasitées prennent une forme sphérique, puis *éclatent,* libérant de nombreux Bactériophages : le phénomène est visible à l'ultra-microscope.

Les Bactériophages libérés vont parasiter d'autres bactéries, *et ainsi de suite*, jusqu'à ce que toutes les bactéries soient lysées.

En fin de lyse, l'émulsion se trouve *clarifiée ;* on possède un *lysat*. Ce lysat est *plus riche* en Bactériophages que ne l'était l'émulsion primitive.

Par filtration du lysat, on obtient un *filtrat ;* ce filtrat contient les Bactériophages : l'agent de la lyse est un *virus filtrant.*

Quand on effectue l'expérience de lyse sur un milieu solide, en coulant sur ce milieu un mélange d'émulsion bactérienne et de Bactériophage, deux aspects peuvent être observés. Le milieu peut ne pas se recouvrir de culture bactérienne. Mais, si les Bactériophages sont en très petit nombre, la bactérie donne une culture en nappe ; cette nappe est parsemée de taches au niveau desquelles la surface du milieu semble à nu : chaque Bactériophage a engendré un colonie, et, au niveau de cette colonie, la lyse a détruit la couche bactérienne ; on nomme *plages de lyse* ces solutions de continuité observées dans la couche bactérienne ; elles permettent la *numération* des Bactériophages.

---

* D'Hérelle appelle le Bactériophage « parasite obligatoire », bien que, placé en dehors des bactéries parasitées, l'ultravirus ne périsse pas.

§ 2. — LES MICROBES ATTAQUÉS SE DÉFENDENT

Dans un mélange Bactériophage + bactérie (en milieu favorable), deux êtres vivants sont en présence : ils vont se livrer une lutte réciproque.

Le Bactériophage a-t-il la supériorité : il exalte sa virulence en passant de bactérie en bactérie ; on conçoit que, par des expériences successives de lyse, on puisse obtenir un Bactériophage de plus en plus actif, c'est-à-dire de plus en plus *virulent*.

De son côté, la bactérie se défend ; elle sécrète des substances empêchantes et peut même devenir *résistante*.

Quand le Bactériophage est très virulent, toutes les bactéries sont lysées. Quand toutes les bactéries sont résistantes, le Bactériophage est sans action. Entre ces deux extrêmes se placent les cas intermédiaires :

Lorsque le Bactériophage est d'une activité moyenne, et que la bactérie est douée d'un pouvoir de défense ordinaire, les éléments microbiens les plus sensibles sont seul lysés, les autres acquièrent la propriété de résistance. Le milieu liquide se clarifie, mais il n'est pas stérile ; il contient des résistants, parfois trop peu nombreux pour troubler sa limpidité.

Cependant, peu à peu, les bactéries résistantes se multiplient ; le milieu se transforme de nouveau en émulsion louche : une *culture secondaire s'est développée*.

Si l'on opère sur milieu solide, la surface, après s'être nettoyée de bactéries, se recouvre secondairement de résistants.

Repiquons ces cultures secondaires indéfiniment : les individus résistants vont donner des cultures d'aspect

modifié (en particulier aspect glaireux). Ces cultures modifiées sont résistantes. Elles sont formées d'un mélange d'individus microbiens non parasités et d'individus microbiens parasités par le Bactériophage* ; ces dernières bactéries sont *porteuses de germes* quoique résistantes. Ainsi se trouve constituée une *culture symbiotique :* bactérie + Bactériophage, qui, par rupture d'équilibre, pourra se lyser spontanément ou contagionner de Bactériophage les cultures normales mises à son contact (Voir p. 45).

A la fin d'une lyse, il faut se débarrasser des individus résistants dont le développement troublerait le lysat et masquerait les lyses ultérieures ; pour cela, on filtre les lysats entre chaque passage, ou on les chauffe à 58° (température qui, sans détruire le Bactériophage, détruit les bactéries).

§ 3. — ORIGINE DU BACTÉRIOPHAGE

Certaines bactéries sont naturellement réfractaires à une souche de Bactériophage donnée ; mais le Bactériophage peut s'adapter** à une nouvelle espèce microbienne et devenir actif pour cette espèce. Cela se produit, en particulier, dans l'intestin de l'homme et des animaux.

Le Bactériophage est, en effet, un hôte normal de l'intestin : Bacteriophagum intestinale. Il y vit aux dépens

---

* On peut, en partant d'une culture secondaire, isoler par étalement les individus parasités des individus non parasités.

** Pour Bruynoghe, au contraire, il existe des espèces multiples de Bactériophage, chacune étant, du reste, susceptible d'une certaine adaptation.

de bactéries de l'intestin. Survienne une bactérie nouvelle d'abord réfractaire : le Bactériophage peut s'adapter à elle et la lyser. Nous retrouverons cet aspect important de la théorie de d'Hérelle quand nous étudierons le rôle du principe dans l'immunité.

§ 4. — MÉCANISME INTIME DE LA LYSE

D'Hérelle, en 1921, pensait que le Bactériophage produisait des enzymes qui lui permettaient de dissoudre les bactéries, de les digérer : ces enzymes étaient précipitables par l'alcool.

Actuellement, l'auteur est moins affirmatif. Il constate que le B. anthracis asporulé ne s'autolyse pas naturellement, tandis que ce même bacille sporulé subit une dissolution totale après la formation de la spore ; de nombreuses bactéries sporulées se comportent de même. Aussi d'Hérelle se demande si le corpuscule bactériophage, en vivant à l'intérieur de la bactérie, ne pourrait y déterminer une réaction semblable à celle que provoquent les spores dans une bactérie sporulée ; la bactérie, impressionnée par le corpuscule bactériophage, réagirait en produisant des enzymes autolytiques (1).

C'est là une simple hypothèse : D'Hérelle avoue qu'en réalité nous ignorons le mécanisme intime de la lyse.

---

(1) Revue de Pathol. comparée, octobre 1923, p. 616.

CHAPITRE II

THÉORIE DE BORDET ET CIUCA (1920)

VICIATION NUTRITIVE HÉRÉDITAIRE ET CONTAGIEUSE

La théorie de Bordet et Ciuca constitue la première* puissante synthèse qui ait essayé de reconstituer les diverses phases de la lyse transmissible, sans avoir recours à l'hypothèse du Bactériophage (1).

---

(1) Articles principaux : C. R. Soc. de Biol., t. LXXXIII, 1920, pp. 293, 1293, 1296, 1478; t. LXXXIV, 1921, pp. 275, 276, 278, 280, 745; t. LXXXIX, 1923, p. 963.

* Kabeshima (C. R. Soc. de Biol., t. LXXXIII, 1920, p. 219), le premier, nia l'existence du Bactériophage : il soutint la nature diastasique du principe actif. La théorie de Kabeshima peut se résumer ainsi : attaqué par certains microbes, le tube digestif infecté produit, par réaction de défense, un catalyseur qui agit sur une prodiastase préformée dans les microbes infectants et la transforme en diastase lysante. Le catalyseur est libéré au moment de la lyse, et, serait-il à dose infime, continue son action tant qu'on le met en présence de microbes de l'espèce correspondante.

D'Hérelle fait remarquer (*ibid.*, p. 1320) que ce catalyseur serait, après quelques passages en série, réduit à des proportions si minimes qu'il ne saurait plus être actif.

Dans la théorie de Kabeshima on retrouve la notion d'origine intestinale (du catalyseur), et on voit apparaître la conception de réaction de défense de l'organisme.

§ 1. — NOTION DE DÉFENSE

Cette notion s'appuie sur une expérience fondamentale que nous avons déjà eu l'occasion de rapporter (Div. I, Chap. II).

Les auteurs remarquent que les selles de dysentériques sont riches en leucocytes ; ils se demandent si le phénomène ne dépendrait pas d'une *défense de l'organisme*, et notamment d'une activité particulière des *exsudats leucocytaires*.

Ils injectent (à une ou plusieurs reprises) du B. coli* dans le péritoine d'un cobaye, puis recueillent l'exsudat péritonéal très riche en leucocytes. Cet exsudat est ajouté à une émulsion de B. coli normal en bouillon : le tout est mis à l'étuve.

Une petite quantité de ce mélange, portée dans une émulsion en bouillon de B. coli normal, *clarifie* cette émulsion.

A partir de ce premier lysat, on peut, *dans les mêmes conditions* que pour le phénomène de d'Hérelle, obtenir la transmission indéfinie de la lyse en série.

Bordet et Ciuca pensent que le phénomène a pris naissance par suite d'une action de *défense* des leucocytes, luttant contre les microbes inoculés.

---

* Bordet et Ciuca, et après eux d'autres auteurs, ont réalisé des expériences semblables avec d'autres microbes : B. de Shiga, staphylocoque (C. R. Soc. de Biol., t. LXXV, 1921, p. 1120, et t. LXXXVI, 1922, p. 276. Journal of experiment. med., 1921, n° 5). Gratia et Jaumain (C. R. Soc. de Biol., t. LXXXV, 1921, pp. 884 et 1120) ont rapproché le phénomène do Twort de ces expériences.

§ 2. — NOTION DE VICIATION NUTRITIVE : AUTOLYSE

Au contact de ces leucocytes, les microbes inoculés ont subi une *modification*. Cette modification consiste dans un bouleversement spécial de leur nutrition, en une *viciation nutritive*, en une perturbation de la physiologie microbienne.

Normalement, le microbe assimile et désassimile; ces deux fonctions s'équilibrent. Le microbe à nutrition viciée désassimile plus qu'il n'assimile, démolit sa propre substance plus vite qu'il ne la reconstruit ; il subit une véritable *autophagie* ; nous dirions volontiers que le microbe est devenu *cachectique*.

Cette dissolution du microbe par ses propres moyens, c'est l'*autolyse*.

Ainsi « la lyse est l'expression, non pas de l'activité d'un virus invisible, parasite de la bactérie, mais des *aptitudes autolytiques* de la bactérie elle-même, dont la *propension à l'autolyse* se montre désormais considérablement exagérée ».

§ 3. — NOTION DE CONTAGION

Lors de la première lyse, la viciation nutritive a été acquise par contact avec les leucocytes de la défense. Mais dans les lyses suivantes « il suffit, pour communiquer à des microbes normaux cette tendance excessive à l'autolyse, de les additionner d'un peu de liquide de culture où des microbes de même espèce se sont précédem-

ment lysés » ; on peut dire que la propriété d'autolyse est *contagieuse* et que les microbes devenus autolysables sont en même temps *lysogènes*. Ils le sont par l'intermédiaire des produits solubles qu'ils libèrent, car le lysat chauffé à 58° ou filtré est encore capable de contagionner, de rendre autolysables, des microbes sains.

§ 4. — NOTION D'HÉRÉDITÉ

Les microbes viciés se multiplient avant de se lyser. *C'est même une condition de la régénération du principe actif*. Les descendants de ces microbes viciés doivent être également viciés puisqu'ils vont, eux aussi, subir la lyse.

Cette viciation peut théoriquement se transmettre des ascendants aux descendants, soit par contagion, soit par hérédité, et, pour savoir lequel des deux mécanismes agit, il faut examiner des descendants élevés en dehors de toute contagion.

Les descendants seront mis à l'abri de la contagion indirecte (par le liquide lysogène entraîné quand on prélève les ascendants) grâce à de multiples repiquages sur milieu solide. Pour le préserver de la contagion directe (par contact des ascendants) il n'existe pas de méthode certaine, mais plus le nombre des repiquages sur gélose aura été considérable, plus faibles seront les chances de contagionnement : si les descendants éloignés sont contaminés, nous pourrons supposer que c'est par hérédité.

Il convient donc d'étudier les descendants obtenus après plusieurs repiquages sur milieu solide.

Repiquons sur gélose des microbes viciés autolysables

avant qu'ils ne soient autolysés ; la lyse s'effectue sur ce milieu et la souche s'éteint ; les descendants éloignés dont la possession serait nécessaire n'existent pas.

Il faudrait trouver une forme atténuée de la viciation, qui, ne se manifestant pas par l'autolyse, permît à la race de survivre. Si la descendance éloignée d'un tel microbe à maladie atténuée se montrait atteinte de la même maladie, on pourrait parler de transmission par hérédité : on en induirait que la forme mortelle, celle qui déterminait l'autolyse, était également capable de se transmettre par hérédité.

C'est ce que Bordet et Ciuca ont réalisé expérimentalement.

Au cours de leurs recherches sur la lyse du B. coli, ces auteurs ont noté l'apparition, dans les lysats, de cultures secondaires formées de bactéries résistantes.

Reportée sur gélose, la culture secondaire donne (après quelques repiquages qui réhabituent le microbe à la gélose) une culture luxuriante qui diffère beaucoup, par son aspect, d'une culture normale ; elle est plus épaisse, luisante, glaireuse, coulante ; elle est *modifiée*, mais *résistante*.

Repiquée un grand nombre de fois sur gélose, la culture nouvelle garde ses caractères spéciaux.

Quel que soit le nombre des repiquages effectués, si l'on transporte dans du bouillon une parcelle de ces descendants éloignés, le bouillon acquiert la propriété de lyser les B. coli normaux qu'on y introduit : ces *modifiés* sont des *lysogènes résistants*.

Ces microbes modifiés sont atteints d'une *viciation atténuée de même ordre que la viciation d'autolyse* puisqu'ils transforment, par contagion, des microbes normaux en microbes autolysables. Les premiers résis-

tants avaient été contaminés au contact d'un lysat contagieux ; ils avaient contracté une maladie atténuée ; mais eux et leurs descendants sont restés capables de répandre la forme mortelle de la viciation.

La viciation atténuée des résistants se transmet indéfiniment aux descendants ; elle est héréditaire ; *la viciation mortelle des autolysables doit aussi se transmettre par hérédité.*

Dans un des tubes d'expérience, les microbes sont *contagionnés* par une goutte de lysat actif ; ils se multiplient avant de s'autolyser ; leurs descendants sont également autolysables, mais c'est *par hérédité ;* l'autolyse a lieu ; une quantité totale de principe contagieux de beaucoup supérieure à la goutte primitive est libérée : la goutte semble s'être régénérée.

La régénération exige que les microbes soient vivants, placés dans un milieu favorable à la multiplication : elle s'effectue par transmission héréditaire de la viciation.

§ 5. — PROPORTIONS. PLAGES

En réalité, pour que le principe se régénère, il faut que chaque microbe ait été impressionné de façon suffisante ; une quantité infime de principe ne se régénère pas dans une émulsion trop forte.

Lorsque la disproportion est moindre, tout en étant considérable, seuls les microbes extrêmement sensibles sont viciés, et encore le sont-ils peu ; ils régénèrent un principe faible.

Enfin, si le principe est en proportion faible, avec une disproportion moindre que précédemment, seuls les microbes relativement sensibles sont viciés ; ils régé-

nèrent un principe normal. Mais, par étalement du mélange sur gélose, on obtient des plages de lyse. Les microbes impressionnables et leurs descendants ont subi la viciation d'autolyse ; chacune de ces colonies impressionnées s'est autolysée ; les autres microbes se sont développés autour des colonies lysées, et ont formé une nappe qui semble perforée de plages stériles.

En résumé : les microbes se lysent eux-mêmes, s'autolysent, après avoir subi une *viciation nutritive*. Cette viciation apparaît au contact des *leucocytes de la défense ;* elle se transmet d'un tube au suivant par *contagion ;* elle se transmet, dans le même tube, des ascendants aux descendants, par *hérédité*.

La conception de Bordet et Ciuca mérite le nom de *théorie de l'autolyse par viciation nutritive héréditaire et contagieuse* *.

---

* On peut rapprocher de cette théorie celle de Doerr (Klin. Wochenschr., 22-29 juillet 1922). Cet auteur assimile le principe actif à une toxine exerçant son action sur le métabolisme microbien et régénérée par les bactéries malades. La toxine de Doerr ne serait pas une autolysine, mais un produit étranger à la bactérie.

D'Hérelle (Revue de Pathol. comparée, oct. 1923, p. 599) en conclut que cette prétendue toxine qui régénère sa substance propre et se multiplie aux dépens de la bactérie hétérogène, est un être vivant « par suite de la définition de la vie ».

Seiffert (Zeitschr. f. Hygien, t. 98, 1922, p. 482) attribue le phénomène à une autolyse causée par un principe qui n'est pas doué de vie, et qui est étranger à la bactérie. C'est la théorie de l'« exogen autolyse ».

CHAPITRE III

THÉORIE DE LA LIBÉRATION EN AVALANCHE DES LYSINES NORMALES (1922)

§ 1. — DIFFICULTÉS SOULEVÉES PAR LA THÉORIE DE BORDET ET CIUCA

La combinaison des notions de défense, de contagion et d'hérédité, rend la théorie de Bordet et Ciuca particulièrement complexe. D'Hérelle (1) souligne les difficultés que l'on rencontre quand on veut concilier la conception d'hérédité et celle de contagion :

« Bordet et Ciuca voudraient-ils nous faire admettre qu'un caractère héréditaire puisse être excrété à l'état soluble, que ce caractère excrété puisse traverser les filtres de porcelaine, se conserver dans un liquide, s'exalter et s'atténuer, et se communiquer à une bactérie saine par simple contact de ce liquide ? Je crois inutile de discuter une telle théorie que Bordet et Ciuca n'ont d'ailleurs pas explicitement formulée, mais qui serait la seule d'accord avec les faits d'expérience, s'ils voulaient malgré tout persister à soutenir que le phénomène de bacté-

(1) **D'Hérelle.** Revue de Pathol. comparée, oct. 1923, p. 599.

riophagie a pour cause une viciation nutritive héréditaire de la bactérie. »

Pour Bordet et Ciuca, la viciation nutritive peut apparaître sous l'action de trois causes différentes : le contact des leucocytes de la défense (facteur de déclanchement), la contamination par un filtrat contagionnant, la transmission d'un caractère héréditaire.

On comprend mal que ces trois causes, malgré leur dissemblance, produisent les mêmes effets.

En particulier, nous ne voyons pas comment un facteur de déclanchement, *étranger à la culture microbienne*, et un filtrat actif, *uniquement constitué de produits microbiens*, peuvent déterminer *la même viciation nutritive*.

§ 2. — EXPOSÉ DE LA THÉORIE

Carrère (1) et nous-même nous sommes demandés (2) s'il n'était pas possible d'expliquer la lyse transmissible sans faire appel à cette notion de viciation nutritive. Nous avions déclanché le phénomène *in vitro*, en dehors donc de toute action de défense organique : ne pouvait-on pas supposer que le facteur de déclanchement libérait un principe actif *normalement contenu dans toutes les bactéries vivantes?*

A la même époque, certains auteurs (Div. I, ch. I, § 2) obtinrent la lyse transmissible en partant du *filtrat pur* de vieilles cultures microbiennes, *sans facteur de déclanchement étranger à ces cultures ;* les bactéries devaient renfermer en elles-mêmes un produit lysogène libérable dans certaines conditions.

---

(1) Mémoire déposé à l'Acad. des Sc. et Lettres de Montpellier, 1922, et Montpellier médical, avril-mai 1924.

(2) Mémoire inédit déposé à la Fac. de méd. de Montpellier, 1er juin 1922.

Normalement, les microbes vivants effectuent un travail constant de désassimilation, que l'on peut attribuer à l'action d'endolysines ; cette destruction est d'ailleurs compensée par l'assimilation ; le produit lysogène des cultures serait constitué par ces endolysines mises en liberté.

Au cours d'une expérience éloignée du premier passage, on met en contact des bactéries et un peu de ces lysines. Les bactéries se multiplient ; puis les plus sensibles sont brusquement dissoutes par les lysines. En se désagrégeant, elles libèrent leurs endolysines ; le milieu s'enrichit en lysines et devient capable de lyser les bactéries plus réfractaires, d'où nouvelle extériorisation de lysines.

La régénération du principe actif est due à la libération en avalanche des lysines normales.

Il suffit, pour comprendre l'ensemble du phénomène, de savoir comment s'est décrochée la pierre qui produit l'avalanche, comment s'est opérée la première libération de lysines.

Tout facteur capable de désagréger des microbes normaux, sans en détruire les endolysines, libère ces lysines ; ainsi peut agir le vieillissement ; ainsi pourraient agir également certains facteurs de déclanchement étrangers à la culture : phagocytes, extraits leucocytaires, sucs digestifs, extraits végétaux, violet de méthyle ; ils mériteraient le nom de facteurs immédiats.

On peut supposer l'existence de facteurs médiats, ne disloquant plus la bactérie, mais la déterminant à extérioriser ses lysines normales. De tels facteurs pourraient inciter la bactérie à sécréter ses lysines, ou rendre la

membrane d'enveloppe microbienne perméable aux lysines *.

En résumé : un facteur de déclanchement libère des endolysines microbiennes normales : ces lysines sont répandues dans le milieu liquide d'expérience ; mises au contact de nouveaux microbes de même espèce, elles dissolvent ces microbes après qu'ils se sont multipliés : les lysines de ces nouveaux microbes sont extériorisées et le milieu s'enrichit en principe actif : la lyse assure la **régénération du principe bactériolysant.**

Ce ne sont plus des microbes malades qui subissent l'autolyse par le dedans : les microbes sains sont dissous **par le dehors.**

§ 3. — HISTORIQUE

Tandis que nous élaborions ces quelques considérations** (avril-mai 1922), Weinberg et Aznar (1) exprimèrent une conception semblable. Pico (2) émit une idée assez voisine. Il pensa que les agents essentiels de la lyse n'étaient autres que « les ferments lytiques de la bactérie qui se régénéreraient continuellement pour permettre la lyse en série » ; plus tard, il écrivait : « la bactériophagie consiste en une activation de l'autolyse nor-

(1) C. R. Soc. de Biol., t. LXXXVI, 1922, p. 833.

(2) C. R. Soc. de Biol., t. LXXXVII, 1922, p. 1186 ; t. LXXXVII, 1922, pp. 685 et 687.

* [illegible] la division n'interviendrait, ici, qu'au moment du déclanchement, et non pour [illegible] la lyse proprement dite.

** [illegible]

male des bactéries, qui se manifeste dans certaines conditions expérimentales » (1).

De nombreux auteurs (2) ont, depuis 1922, développé avec quelques variantes, cette théorie de la lyse par principe bactérien normal.

On peut encore en rapprocher la théorie d'Otto et Winkler (3). La bactérie normale renfermerait une proenzyme qui se transformerait en enzyme active sous l'influence de la filtration ou de la chaleur. Elle est contraire à l'expérience des passages successifs sans emploi de ces deux moyens.

Remarquons que la théorie de Kabeshima n'est pas très éloignée de la théorie des lysines normales.

On peut enfin apparenter à cette hypothèse la théorie de Bail (4). L'auteur suppose à toute bactérie deux formes : la forme végétative, et une forme filtrante, le *splitter*. Ce *splitter*, introduit dans une émulsion ne renfermant que la forme normale végétative, provoquerait sa transformation en forme *splitter*, et le phénomène s'accompagnerait de la dissolution des corps bactériens. Ainsi, le principe actif serait corpusculaire, mais formé par la bactérie elle-même ; il serait vivant, mais non autonome. Cette théorie serait en harmonie avec ce que l'on commence à savoir des formes filtrantes de certains microbes (B. de Koch, méningocoque, etc...). Elle se rattache à un très intéressant problème de biologie générale.

§ 4. — CRITIQUE DE CETTE THÉORIE

D'Hérelle fait d'abord à cette théorie les critiques générales qu'il adresse à toute théorie qui se passe du

(1) C. R. Soc. de Biol., t. LXXXVII, 1922, p. 836.

(2) **Davison**. Abstracts of Bacteriology, t. VI, 1922, p. 27.
Kraus et Gomez. Brazil medico, 22 octobre 1922.
Da Costa Cruz. Memorias instituto Osvaldo, 1922.
Leddingham. Brit. med. Journal, 19 août 1922.

(3) Deutsch. med. Wochenschr., 24 mars 1922.

(4) Wien. klin. Wochenschr., 15 mai 1921.

Bactériophage. Il reconnaît cependant qu'à priori « elle n'est pas absurde ». Puis, il dirige contre elle des critiques spéciales (1) :

a) La bactériolyse nécessite, pour se produire en série, des cultures jeunes ; et pourtant ce sont les cultures âgées qui s'autolysent naturellement.

On pourrait répondre : les cultures âgées s'autolysent spontanément en libérant des lysines peu actives, suffisantes pourtant, dans quelques cas, pour déclancher la lyse en avalanche. Mais la transmission en série ne se fait que par l'emploi de bactéries jeunes, aux échanges cellulaires intenses, renfermant de vigoureuses endolysines. Surprises et disloquées en pleine santé, ces bactéries peuvent libérer des lysines énergiques.

b) D'Hérelle reprend ensuite l'argument des cultures symbiotiques ; il remarque que, des cultures secondaires, on peut isoler des individus microbiens normaux, non lysogènes, et des individus modifiés, lysogènes. On peut donc *purifier* une culture qui, en bloc, était lysogène : le principe actif était une impureté ; il n'était pas contenu dans la bactérie normale et ne saurait être une lysine normale.

Il resterait à prouver que les cultures qui, par vieillissement, ont déclanché la lyse, étaient identiques aux cultures secondaires devenues expérimentalement lysogènes.

c) D'Hérelle note que Jaumain (2) a obtenu l'autolyse complète du staphylocoque par conservation d'une émulsion en tube scellé et plein. Dans de telles conditions, les endolysines normales devraient être libérées. Pour-

(1) Revue de Pathol. comparée, oct. 1923, p. 603.
(2) C. R. Soc. de Biol., t. LXXXVII, 1922, p. 790.

tant, à partir de ce premier lysat, on ne peut obtenir la lyse en série.

Mais, dans les conditions spéciales où se place Jaumain, les lysines normales peuvent subir des modifications qui les rendent inactives ; on est tenté de comparer à un phénomène cadavérique cette autolyse en milieu confiné.

d) D'Hérelle (1) et Hauduroy (2) ont montré que, dans l'intestin de certains cholériques ou typhiques et de certains vaccinés, peut apparaître un principe bactériolysant. La lyse ainsi produite devrait libérer les endolysines : les microbes lysés étant jeunes, ces endolysines devraient être actives ; l'action devrait être transmissible ; elle ne l'est pas. De même, les substances précipitées par l'alcool, dans le principe actif, sont lysantes : elles dissolvent une culture jeune : et pourtant la lyse ne se transmet pas.

Ces derniers arguments sont importants et font perdre à la théorie des lysines normales une part de sa solidité. Cependant, les deux faits invoqués n'ont pas subi l'épreuve de multiples confirmations. En outre, les principes actifs isolés par d'Hérelle et Hauduroy ou précipités par l'alcool diffèrent du principe lysant que nous étudions : ils pourraient, en détruisant les microbes, altérer les lysines normales : *il faut des conditions bien spéciales pour démolir un microbe en laissant intactes ses endolysines.*

On pourrait ajouter aux arguments de d'Hérelle un argument défavorable à la théorie des lysines normales.

---

(1) C. R. Soc. de Biol., t. LXXXVIII, 1923, p. 723.
(2) C. R. Soc. de Biol., t. LXXXVIII, 1923, p. 1084.

mais favorable à la théorie de Bordet : la théorie des lysines normales rend difficilement compte de la conservation, après maints repiquages successifs, du pouvoir lysogène d'une colonie secondaire résistante : il faudrait supposer que quelques individus se lysent à chaque repiquage et régénèrent un principe qui imbibe la colonie. Cette expérience des colonies lysogènes, sur laquelle Bordet et Ciuca ont pu établir leur notion d'*hérédité*, met à nu le point faible de la théorie des lysines normales.

CONCLUSIONS DE LA DIVISION II

Trois synthèses se proposent de reconstituer l'ensemble du phénomène :

Celle de d'Hérelle, application simple de la théorie Pasteurienne, « transposition, à l'échelle des bactéries, des faits qui ont peu à peu été découverts pour les bactéries elles-mêmes vis-à-vis des *Macrobes* (1) ». Elle suppose l'*unité* des phénomènes biologiques : le microbe est infectable par l'ultravirus bactériophage, et réagit à cette infection. Elle nous révèle, dans un monde lilliputien que le microscope ne peut pas toujours explorer, cette *struggle for life* qui est à la base de notre conception actuelle de la pathologie. Si elle s'imposait un jour à nous, elle projetterait une lumière considérable sur la question encore nébuleuse des ultravirus. Et pourquoi d'ailleurs le Bactériophage lui-même ne serait-il pas le géant d'un ultra-Bactériophage capable de le parasiter?

La synthèse de Bordet et Ciuca satisfait moins l'imagination. Pourtant, on y retrouve cette « unité biologique » qui fait la puissance de la théorie de d'Hérelle : Bordet nous présente toute une race de microbes dégénérés, capa-

(1) **Coutière.** Biologie médicale, vol. XIII, 1923, p. 8.

bles de transmettre à leurs descendants leur tare indélébile. Il remet en question le problème si grand et si peu connu de l'*hérédité*. Il nous rappelle que, même chez les bactéries, l'infection n'est pas tout : la diathèse garde ses droits.

La théorie des lysines normales s'accorde mieux avec certains faits, moins bien avec d'autres. Elle a les avantages et les inconvénients des simplifications, et ce dernier mot appelle volontiers le qualificatif de « simpliste », en un temps où le moindre des phénomènes biologiques nous semble d'une extrême complexité.

Quoi qu'il en soit, aucun auteur n'a pu, jusqu'ici, donner en faveur de la théorie qu'il soutient l'*argument décisif* qui mettra un terme à la discussion.

DIVISION III

NOS EXPÉRIENCES (1921-1922)

EXSUDATS LEUCOCYTAIRES ASEPTIQUES « IN VITRO »

CHAPITRE I

IDÉES DIRECTRICES

Nous nous trouvions, quand nous avons entrepris ces premières recherches, en présence de la théorie de d'Hérelle et de celle de Bordet et Ciuca.

Bordet venait de réaliser son expérience d'inoculation intrapéritonéale de B. coli au cobaye; il en avait déduit que les bactéries acquéraient l'aptitude à l'autolyse, par contact *in vivo*, avec les leucocytes de la défense. Nous avons étudié quelle place devait être donnée à cette notion de défense. Pour cela, nous avons provoqué la formation d'exsudats leucocytaires péritonéaux par injections aseptiques, et cherché s'ils étaient capables de déclancher la lyse du B. de Shiga *in vitro*.

D'Hérelle n'admettait pas que les leucocytes pussent normalement abriter le Bactériophage : il expliquait les résultats de Bordet par une migration de l'ultravirus intestinal vers le péritoine à travers une paroi irritée*. Pour lui, le phénomène de Bordet était inconstant, mais se produisait sûrement quand le cobaye, avant l'inoculation de B. coli, avait ingéré du Bactériophage. Cependant, Bordet avait vérifié que l'intestin de ses cobayes ne contenait pas de principe actif.

Une discussion était engagée entre d'Hérelle et Bordet (1). Nous nous sommes proposé de voir quelle était la valeur de l'objection de d'Hérelle. Nous avons produit des exsudats leucocytaires aseptiques *en des zones éloignées du tube intestinal*, et nous avons comparé leur action *in vitro* à celle des exsudats péritonéaux.

---

(1) C. R. Soc. de Biol., t. LXXXV, 1921, p. 767 ; et Le Bactériophage (Masson, 1921), pp. 15 et 16.

* On sait que l'invertine du suc intestinal peut passer dans le liquide péritonéal.

CHAPITRE II

TECHNIQUE ET RÉSULTATS (1)

§ 1. — RÉPONSE A LA NOTION DE « DÉFENSE » DE BORDET

Ces expériences diffèrent de celles de Bordet et Ciuca, en ce que le microbe (ici le B. de Shiga) n'est jamais en contact avec l'organisme du cobaye.

Expérience I.

Injection, dans le péritoine d'un cobaye de 350 gr., de 10 cc. de Mellins food (préparé la veille par cuisson au bain-marie et subissant, peu avant d'être injecté, un chauffage semblable de stérilisation).

Le lendemain, l'animal est sacrifié par saignée. Prélèvement aseptique de l'exsudat péritonéal ; vérification de sa richesse en globules blancs.

De légères émulsions de B. de Shiga jeunes (provenant d'une culture de 24 h. sur gélose) sont faites dans deux tubes de 10 cc. de bouillon*.

---

(1) **Lisbonne, Boulet et Carrère.** Bull. Soc. des Sc. méd. Montpellier, 1922, p. 229 ; C. R. Soc. de Biol., t. LXXXVI, 1922, p. 340.

* Les détails techniques donnés ici sont identiques pour toutes les expériences de ce chapitre. Il en est de même des expériences témoins.

La première émulsion est additionnée de XXX gouttes d'exsudat, la seconde de 2 cc. Un tube témoin permet de comparer le développement d'une émulsion normale de B. de Shiga ; un autre témoin confirme la stérilité de l'exsudat.

Les mélanges Exsudat + Bacille sont laissés 4 jours à l'étuve (37°).

Par filtration de la totalité des 2 mélanges sur bougie Chamberland L_3, on obtient un *premier filtrat*.

A une émulsion bactérienne on ajoute XXV gouttes, et à une autre émulsion* 2 cc. de filtrat. A chaque passage : témoin de culture normale. Après 5 jours d'étuve, les tubes de mélange sont moins troubles que le témoin.

La totalité des deux tubes de mélange est filtrée et donne un deuxième filtrat.

De nouveau XXV gouttes de ce filtrat sont ajoutées à une émulsion microbienne. 5 jours d'étuve. Filtration, et ainsi de suite.

D'une façon générale, quand apparaît le début de la lyse, on diminue, au passage suivant, la proportion de filtrat ajoutée à l'émulsion (un tube à V gouttes, un à XX), de façon à mesurer l'activité des filtrats.

Dans cette expérience : *le troisième filtrat amène la lyse totale en 24 heures*, mais le lendemain une culture secondaire s'est développée.

Le quatrième filtrat produit la lyse totale avec V gouttes en 24 heures ; culture secondaire le lendemain.

Le cinquième filtrat produit la lyse totale avec V gouttes ; pas de culture secondaire, même après 10 jours de contact. On arrête au septième filtrat.

Les passages en série ont donc exalté l'activité du lysat : il s'agit de bactériolyse transmissible.

Expérience II.

Technique identique à celle de l'expérience I.

Dès le 3e passage, la culture pousse peu. La lyse totale n'est obtenue qu'au 10e passage. Elle est transmissible.

---

* Toutes ces émulsions sont semblables à la première.

Expérience témoin.

Des passages en série sont faits, en partant d'un mélange de B. de Shiga jeunes et de filtrat d'une culture normale de 5 jours en bouillon. On n'obtient pas de lyse ; le B. de Shiga qui a servi dans toutes nos recherches n'est donc pas spontanément lysable.

La lyse, déclanchée *in vitro*, ne pouvait plus être attribuée aux leucocytes d'un organisme en état de défense.

Mais nos expériences n'étaient pas à l'abri de l'objection de d'Hérelle. Le Bactériophage aurait pu traverser la paroi intestinale irritée par le Mellins food ; en effet, les matières fécales de nos cobayes se montraient capables d'amorcer une bactériolyse transmissible du B. de Shiga (au 5e passage).

Nous avions prélevé les leucocytes trop près de l'intestin.

§ 2. — RÉPONSE A L'OBJECTION DE D'HÉRELLE

Les exsudats leucocytaires sont déterminés en des régions qui n'ont aucun rapport avec le tube digestif.

Expérience III. — *Exsudat pleural du lapin.*

Un lapin reçoit 10 cc. de Mellins food dans la cavité pleurale. Exsudat prélevé le lendemain, et mis en contact avec du B. de Shiga. Filtrations et passages en série comme précédemment.

Au 2e passage, la culture pousse mal. Au 3e passage, *lyse* vérifiée transmissible par 5 autres passages.

Lyse transmissible en partant des matières fécales.

Expériences IV et V. — *Exsudats sous-cutanés chez le chien.*

Injection de 1 cc. d'essence de térébenthine sous la peau du dos,

au voisinage de l'épaule. Abcès ponctionné le 3e jour. Exsudat mis au contact du B. de Shiga. Filtrations et passages en série.

Premier chien : au 1er passage, la culture pousse mal ; au 2e passage, *lyse totale** et transmissible.

Second chien : culture faible au 5e passage. Lyse totale et transmissible à partir du 6e passage.

Les fèces des deux chiens déclanchent également le phénomène.

Les leucocytes du second exsudat, après éclatement (par congélation suivie de brusque réchauffement) provoquent encore la lyse (au 6e passage).

§ 3. — BACTÉRIOPHAGE ET LEUCOCYTES

Les expériences effectuées jusqu'alors, à partir de leucocytes, s'adressaient à des exsudats souillés de bactéries : expérience de Bordet, expérience de d'Hérelle (1) (pus d'un abcès provoqué par la morsure d'un cobaye), expérience de Gratia (2) (abcès sous-cutané de la face). D'Hérelle pense que la morsure du cobaye a inoculé un staphylocoque et un Bactériophage qui devient staphylophage. Gratia voit dans le fait qu'il observe « l'expérience de Bordet et Ciuca réalisée par la nature ».

D'Hérelle, dès qu'il eut connaissance de nos résultats, supposa que des Bactériophages, semblables en cela à des microbes, pouvaient être englobés par les leucocytes : mais ces ultravirus devaient être rapidement détruits par phagocytose, puisque les leucocytes des couennes de caillots sanguins n'en contenaient jamais (chez le cheval) (3). Bruynoghe et Maisin (4) avaient même montré

(1) Le Bactériophage (Masson, 1921), p. 85.
(2) C. R. Soc. de Biol., t. LXXXVI, 1922, p. 276.
(3) C. R. Soc. de Biol., t. LXXXVI, 1922, p. 477.
(4) C. R. Soc. de Biol., t. LXXXVI, 1922, p. 292.

* Les lysats obtenus à partir de doses minimes de principe ne donnent pas de cultures secondaires ; les lysats obtenus par de fortes doses en donnent.

que le principe était partiellement détruit par contact avec des leucocytes.

Aurions-nous eu la main singulièrement heureuse ou serions-nous tombé sur des phagocytes particulièrement friands de Bactériophage et bien peu aptes à le digérer?

Nous préférons conclure que des leucocytes aseptiques sont capables de déclancher, in vitro, *le phénomène de la bactériolyse transmissible.*

CONCLUSIONS DE LA DIVISION III

La réfutation, par ces expériences, de la notion de « défense » de Bordet n'a qu'un intérêt minime ; la théorie des lysines normales, désormais plus facile à concevoir, est encore trop « verbale » pour pouvoir s'imposer.

La réfutation de l'objection faite à Bordet par d'Hérelle est autrement importante.

Si vraiment les leucocytes déclanchent, *in vitro*, le phénomène de bactériolyse : ou bien le principe est né dans le mélange bactéries-leucocytes et ce principe ne saurait être qu'une diastase bactérienne, ou bien le principe est un ultravirus et il faut admettre que les leucocytes le véhiculent.

D'autres recherches ont fait connaître les multiples repaires que devrait habiter le Bactériophage : microbes, sucs digestifs, extraits végétaux, eau de mer et de fleuve... *, etc.

En nous proposant de croire à l'existence du Bacteriophagum intestinale, d'Hérelle ne nous invitait, en somme, qu'à ajouter un tout petit virus à la flore luxuriante du contenu intestinal, et nous y consentions.

Mais, voici qu'il nous est demandé d'accepter la pré-

---

* Il serait étonnant que les cultures des collections pussent, le plus souvent, échapper à la contamination ; elles devraient être presque toutes constituées de *bactéries résistantes*, sinon la plupart auraient disparu lors des repiquages successifs.

sence de l'indiscret ultramicrobe en des lieux supposés indemnes de parasites : dans les cultures de nos collections que nous avions pris tant de précautions à protéger de tout germe étranger, et jusque dans les leucocytes !

On est tenté de qualifier de peu vraisemblable l'existence du Bactériophage, et on serait en droit de la nier si la vraisemblance constituait un critérium de la vérité scientifique.

Personnellement, nous préférons nous rallier à la formule adoptée par Bordet (1) :

« Les deux théories ont chacune leurs arguments et une certaine vraisemblance. Il est certain qu'on peut citer des faits sinon convaincants, du moins impressionnants, en faveur de l'une aussi bien que de l'autre.

Peut-être vaudrait-il mieux que la théorie de d'Hérelle fût vraie, parce que, si elle l'était, nous serions en possession d'une culture d'un virus invisible. Or, les virus invisibles ont, en pathologie, une importance énorme et ils échappent totalement aujourd'hui à nos investigations. Toute acquisition susceptible de nous les faire connaître mieux représenterait un inestimable progrès. »

---

(1) Bull. Acad. roy. de méd. de Belgique, juin 1923, p. 10.

DEUXIÈME PARTIE

LA BACTÉRIOLYSE TRANSMISSIBLE joue-t-elle un rôle DANS L'IMMUNITÉ ?

CHAPITRE PRÉLIMINAIRE

COMMENT SE POSE LA QUESTION

Pour d'Hérelle, le Bactériophage est un *ultramicrobe d'immunité* (1) ; il contribue à débarrasser l'intestin des germes d'infection qui y ont pénétré.

Pour Kabeshima, le principe bactériolysant est un *ferment d'immunité* (2), résultant de la conjugaison, avec un proferment microbien, d'un catalyseur sécrété par certaines cellules de l'organisme attaqué.

Pour Bordet et Ciuca (3), les microbes, sous l'action des *leucocytes de la défense*, subissent une modification spéciale ; l'acquisition de leurs nouvelles propriétés est une conséquence de l'effort d'immunisation.

Quelle que soit leur idée sur la nature du principe actif, ces divers auteurs ont une tendance plus ou moins marquée à lui faire jouer un rôle dans l'immunité.

---

(1) C. R. Acad. des Sc., t. CLXV, 1917, p. 373.
(2) C. R. Soc. de Biol., t. LXXXIII, 1920, p. 219.
(3) C. R. Soc. de Biol., t. LXXXIII, 1920, pp. 1293 et 1296.

Nous considérerons successivement :

1° Les rapports entre l'apparition dans les selles ou le sang du principe actif pour un microbe infectant, et l'entrée en convalescence de l'infecté ;

2° La valeur du principe actif comme agent d'immunisation préventive ;

3° La possibilité de son emploi en thérapeutique.

DIVISION I

RAPPORTS AVEC LA CONVALESCENCE

CHAPITRE I

OPINION DE D'HÉRELLE ET DE HAUDUROY

D'Hérelle a fait sa première observation de bactériolyse du B. de Shiga en partant des selles d'un dysentérique qui entrait en convalescence.

Il considère que la coïncidence (1) entre le début de la convalescence et l'apparition du principe actif pour le bacille dysentérique est la règle. Dans les cas mortels, on ne trouve à aucun moment ce principe.

(1) Le Bactériophage (Masson, 1921), pp. 130 sqq.

Des constatations semblables sont effectuées par lui dans la typhose aviaire des poules (due au B. gallinarum), la peste du rat, la septicémie hémorragique du buffle, ou barbone (qui n'est pourtant pas une maladie intestinale), la flacherie des vers à soie, l'infection des rats par le B. typhi murium : dans ces divers cas, un Bactériophage actif vis-à-vis du microbe d'infection apparaîtrait au moment de la convalescence.

D'Hérelle (1), A. Kuttner (2), puis Hauduroy (3), étudient, au même point de vue, le sang et les selles des typhiques. De l'ensemble de leurs travaux (28 observations de d'Hérelle, et surtout 30 observations de Hauduroy), il résulte que :

Le Bactériographe actif pour le B. typhique apparaît dans les selles dès le début de la convalescence de la fièvre typhoïde ; on ne le trouve jamais quand la température est élevée ; on ne le trouve jamais dans les cas à évolution fatale. Il est très rarement présent dans les selles d'individu sain.

Dans le sang des individus sains, jamais de principe actif pour le B. typhique. Dans le sang des hémocultures positives, pas de principe durant la période d'état. Dans les hémocultures positives de la défervescence, on peut trouver un principe lysant le B. typhique : l'hémoculture n'est pas repiquable ; puis, le Bactériophage devient plus actif, et l'hémoculture devient négative.

Hauduroy conclut que *le Bactériophage joue un rôle*

---

(1) C. R. Acad. des Sc., t. CLXVIII, 1919, p. 631 ; et Le Bactériophage (Masson, 1921), p. 141.

(2) Proceed Soc. f. exper. biol. a. med., t. XVIII, 1921, p. 158.

(3) C. R. Soc. de Biol., t. LXXXVIII, 1923, p. 1084 ; t. LXXXIX, 1923, pp. 791 et 875.

extrêmement important dans la guérison de la fièvre typhoïde.

Le rôle du Bactériophage dans l'évolution des maladies, selon la théorie de d'Hérelle, peut se résumer ainsi :

Le Bactériophage, *hôte normal de l'intestin** où il vit aux dépens des bactéries saprophytes, est ordinairement capable de *s'adapter* aux microbes pathogènes** ; quand l'adaptation est accomplie, la guérison survient. Si le Bactériophage est adapté avant la contamination (infections antérieures et répétées), la maladie ne se déclare pas. Si le Bactériophage ne réussit pas à s'adapter, le malade meurt.

A côté des modes d'immunité que nous connaissions, il faut décrire désormais une *immunité par le Bactériophage*.

---

* D'après Védrenne (Th. de Paris, 1922, n° 329), le principe actif ne ferait son apparition dans l'intestin qu'au moment de la convalescence de la première affection gastro-intestinale du nourrisson.

** Dans les infections extra-intestinales, l'adaptation se ferait à la faveur d'un passage momentané des bactéries pathogènes dans l'intestin.

CHAPITRE II

NOS RECHERCHES DANS LA FIÈVRE TYPHOÏDE (1923-1924)

Nous avons choisi des malades ou convalescents chez lesquels le bacille infectant avait été isolé par hémoculture*. Nous avons cherché si leurs selles ou leur sang se montraient capables de déclancher la lyse transmissible de ce microbe d'infection.

Notre étude porte sur 9 sujets : 5 atteints de typhoïde, 1 atteint de paratyphoïde B et 3 non typhiques.

La technique générale suivie dans tous les cas (à part quelques variantes sans importance) sera exposée une fois pour toutes.

§ 1. — TECHNIQUE GÉNÉRALE

1° Selles.

Selles recueillies dans un bassin flambé ; prélèvement de 10 gr. environ dans un flacon stérilisé à l'autoclave. Addition, dans le

* Nous remercions MM. les professeurs Ducamp, Vedel et Leenhardt qui nous ont autorisé à effectuer des prélèvements dans leurs services. Nous remercions également notre ami le docteur Sollier, chef de Laboratoire des Cliniques, de nous avoir apporté, au cours de ces opérations, son aimable collaboration.

flacon, de 20 cc. de bouillon stérile ; l'émulsion de selles est laissée 24 heures à 37°. Filtration sur papier filtre puis sur bougie Chamberland L_3 (matériel stérilisé à l'autoclave).

L gouttes du filtrat sont ajoutées à une émulsion légère, en bouillon, de bacilles jeunes (bacilles de l'hémoculture ayant 24 h. sur gélose). Après 5 jours de contact *à la température du laboratoire* (20° environ), filtration sur bougie L_3.

XXX gouttes du nouveau filtrat sont ajoutées à une émulsion légère de bacilles jeunes. Après 5 jours de contact à la température du laboratoire, filtration... et ainsi de suite : moyenne de 10 passages en série quand la lyse n'apparaît pas.

Quand la 1re lyse se manifeste, on vérifie qu'elle est transmissible en série, en effectuant plusieurs passages (au moins 5), et qu'elle peut être obtenue par des doses minimes de filtrat (I à V gouttes).

C'est, à peu de chose près, la technique indiquée par Hauduroy (*loc. cit.*).

Des témoins du développement du bacille normal sont faits à chaque passage.

On vérifie en outre que les bacilles n'étaient pas spontanément lysables : opérations semblables aux précédentes, 10 passages, mais sans rien ajouter à la 1re émulsion bactérienne.

2° Sang.

5 cc. de sang sont mis dans une émulsion de bactéries jeunes en bouillon. Filtration après 24 heures d'étuve. Addition de XXV gouttes de filtrat à une émulsion de bactéries jeunes ; les passages sont effectués comme précédemment.

§ 2. — OBSERVATIONS

1° Pendant la période fébrile.

Obs. I.

Femme de 27 ans. Entrée au 15e jour le 27 nov. 1923. Etat grave. Délire. T. 40°. P. 120. Hémorragies intestinales répétées les 27 et 28 nov. Hémoculture le 28 : positive (Eberth).

Selles et sang prélevés le 30 en pleine pyrexie : *pas de lyse du B. d'hémoculture.*

Mort le 1er décembre.

Obs. II.

Femme de 21 ans. Entrée au 8e jour le 4 nov. 1923. Etat grave. T. 40°5. P. 120. Hémoculture le 6 : positive (Eberth).

Selles prélevées le 8 nov., en pleine pyrexie : *lyse transmissible du B. d'hémoculture au 6e passage.* Sang prélevé le 8 nov. : pas de lyse.

Mort le 13 nov. A la nécropsie : absence de complications.

Obs. III.

Homme de 18 ans. Entré au 8e jour le 21 janv. 1924. Etat ataxo-adynamique grave. T. 40°. P. 110. Hémoculture le 21 : positive (Eberth).

Selles prélevées le 23 janv. en pleine pyrexie : *lyse transmissible du B. d'hémoculture au 4e passage.* Sang prélevé le 23 janv. : pas de lyse. Le principe obtenu à partir des selles lyse, encore en série, 6 souches diverses d'Eberth, 1 souche de Para A et 3 de Para B.

Le 23 (après prélèvement des premières selles), ingestion de 3 cc. et injection sous-cutanée de 2 cc. d'un mélange de principes actifs pour divers échantillons d'Eberth (que l'on vérifie ensuite être actif pour le B. d'hémoculture). Pas de réaction. Le lendemain, la température baisse de 1°. Le 26, hémorragie intestinale, puis phlébite.

Mort le 16 février.

Obs. IV.

Femme de 37 ans. Entrée au 8e jour le 20 nov. 1923. Etat peu grave. T. 39°. P. 100. Hémoculture le 22 : positive (Eberth).

Selles prélevées le 30 nov., la T. étant de 38° (elle se maintiendra au-dessus de 38° jusqu'au 18 déc.) : *lyse transmissible du B. d'hémoculture au 2e passage.* Sang prélevé le 1er déc. : pas de lyse.

Sort guérie le 12 janv. 1924.

2° Pendant la convalescence.

Obs. V.

Homme de 40 ans. Entré au 12e jour le 5 déc. 1923. Forme légère. T. 39°. Hémoculture le 6 déc. : positive (Eberth).

Apyrexie à partir du 14 déc. Selles prélevées le 20 déc. : *lyse transmissible du B. d'hémoculture au 5e passage*. Sang prélevé le 20 déc. : pas de lyse.

Sort guéri le 23 décembre.

Obs. VI.

Homme de 20 ans. Entré au 8e jour, le 13 fév. 1924. Forme moyenne. T. 39°. P. 100. Hémoculture le 14 fév. : positive (Para B).

Selles prélevées le 23 fév. au début de la convalescence : *pas de lyse*. Sang prélevé le 24 ; pas de lyse.

Guérison. Selles prélevées le 14 mars : *pas de lyse*.

3° Sujets non typhiques.

Obs. VII.

Homme de 40 ans. Entérite tuberculeuse (diarrhée).

Pas de lyse à partir des selles.

Obs. VIII.

Homme de 25 ans. Sujet normal. *Pas de lyse à partir des selles.*

Obs. IX.

Homme de 25 ans. Emphysème pulmonaire. *A partir des selles : lyse transmissible au 2e passage* (le sujet aurait eu une fièvre typhoïde douteuse 20 ans auparavant).

La lyse est obtenue par la technique indiquée qui comprend, au début, une macération à l'étuve, pendant 24 heures, des selles diluées dans du bouillon. Si on remplace cette macération en bouillon par une macération dans une émulsion de B. d'Eberth, la lyse ne se produit plus. Pour que la lyse apparaisse, il semble qu'un séjour des selles à l'étuve, dans du bouillon ne contenant pas de

bacilles, soit nécessaire. Ce fait demanderait à être confirmé avant qu'une interprétation pût en être donnée*.

§ 3. — CONSÉQUENCES

La lyse transmissible du bacille d'infection a été obtenue, à partir des selles :

Pendant la période fébrile, 3 fois sur 4 (Obs. II, III, IV).

Dans des cas mortels, 2 fois sur 3 (Obs. II et III).

A la convalescence, 1 fois sur 2 (Obs. V).

Chez des non typhiques, 1 fois sur 3 (Obs. IX).

La lyse n'a jamais été obtenue en partant du sang.

Ces résultats montrent que la lyse apparaît au moins aussi souvent chez des malades pyrétiques ou dans des cas mortels, que chez les sujets qui entrent en convalescence.

Déjà certains auteurs (1) avaient constaté que les affections ne correspondaient pas toujours au bacille lysé, et douté du rôle du principe actif dans la convalescence ; Wagemans (2) n'avait pas trouvé de principe actif pour le B. typhique chez les porteurs de germes, ni chez les convalescents de typhoïde ; il en déduisait que « la présence du Bactériophage d'un germe morbide n'est pas en rapport avec la maladie causale » et qu' « il

(1) **Derré, Jouan et Haguenau.** C. R. Soc. de Biol., t. LXXXIII, 1920, p. 1348.

(2) Bull. de l'Acad. royale de méd. de Belgique, juin 1923, pp. 169 et 178.

* Nous avons aussi cherché à reproduire l'expérience de l'antagonisme microbien de Lisbonne et Carrère par contact du B. d'Eberth avec du B. coli (l'un de ceux qui avaient déterminé la lyse du B. de Shiga). Nous n'avons pu obtenir la lyse du B. d'Eberth.

n'y a pas lieu de mettre une connexion si intime entre la guérison et l'apparition du Bactériophage » *.

La loi de coïncidence de d'Hérelle se trouve donc fréquemment en défaut.

Cela ne veut pas dire qu'il n'existe aucune corrélation entre l'infection et l'apparition du principe correspondant. Le principe pourrait être en rapport avec l'infection sans constituer, obligatoirement, un facteur de convalescence. Les propriétés agglutinantes d'un sérum de typhique sont actuellement considérées comme un indice d'infection et non d'immunité ; pourtant elles interviennent peut-être pour faciliter la tâche de défense de l'organisme : n'en serait-il pas de même du pouvoir que présentent les selles de typhiques de déclancher la lyse transmissible du bacille isolé par l'hémoculture ? C'est une simple hypothèse.

Dans l'état actuel des recherches, nous ne saurions pas affirmer, encore moins préciser, le rôle que joue le principe bactériolysant (dans les cas où il apparaît) dans l'évolution de la fièvre typhoïde.

---

* L'idée que le principe actif correspondant au microbe d'infection apparaît à la convalescence est peu compatible avec l'obtention fréquente d'un principe lysant le B. de Shiga, à partir des déjections d'animaux normaux : lapin, chien (Voir nos expériences), cheval (D'Hérelle, C. R. Acad. des Sc., t. CLXX, 1920, p. 72 , cobaye (Dumas, C. R. Soc. de Biol., t. LXXXIII, 1920, p. 1314 et nous-même) ; par contre, Wagemans ne l'obtient presque jamais en s'adressant aux matières fécales du cobaye et du lapin (Bull. de l'Acad. roy. de méd. de Belg., juin 1923, p. 166).

DIVISION II

ESSAIS D'IMMUNISATION PRÉVENTIVE

CHAPITRE I

RECHERCHES NON PERSONNELLES

D'Hérelle, croyant que l'adaptation du Bactériophage intestinal à la bactérie pathogène commandait l'apparition de la convalescence, essaya l'immunisation préventive par administration de Bactériophage préalablement adapté. D'après ses recherches (1) :

Dans la typhose aviaire, l'épizootie s'arrête dès que le principe lysant le B. gallinarum est présent dans les déjections de l'un des animaux de l'élevage ; le Bactériophage serait contagieux et la prophylaxie naturelle

(1) Le Bactériophage (Masson, 1921), pp. 157 et 187 sqq.

s'effectuerait par son moyen. L'épidémie cesse dès que tous les animaux abritent un Bactériophage correspondant.

On peut protéger les poules contre la typhose aviaire, en milieu épizootique, en leur faisant ingérer du principe lysant le B. gallinarum. Cette ingestion les immunise encore contre l'infection expérimentale.

Pour le barbone du buffle : même préservation par injection de principe anti-barbone.

Villazon (1) immunise, par le principe, le cobaye contre la peste.

D'Hérelle ne donne de valeur qu'aux expériences relatives à des maladies naturelles. Il a pourtant entrepris, chez le lapin, quelques esssais d'immunisation contre les injections de B. de Shiga : le lapin recevait, préalablement, une injection sous-cutanée de principe actif pour ce bacille. Il constate que le principe récent tue le lapin, car il est riche en toxines; pourtant ce principe actif serait moins toxique qu'une culture normale de B. de Shiga. En injectant un principe vieilli (un mois), la toxicité a disparu. Si on injecte au lapin du principe vieilli atoxique, on l'immunise contre une injection ultérieure de B. de Shiga, mais l'immunité n'apparaît qu'après 5 à 6 jours : d'Hérelle en conclut qu'elle n'est pas due au principe, mais aux produits microbiens solubles contenus dans le filtrat actif complexe (2)*.

Cette dernière expérience nous fait entrevoir la difficulté capitale de ce problème d'immunité.

(1) C. R. Soc. de Biol., t. LXXXIX, 1923, p. 754.

(2) C. R. Acad. des Sc., t. CLXV, 1917, p. 373; et Le Bactériophage (Masson, 1921), p. 209.

* Caublot (Thèse de Paris, 1923, n° 310) n'a pu, par cette méthode, immuniser le cobaye contre le charbon.

Dans ces divers essais d'immunisation, on administre un filtrat de culture lysée, *produit complexe*, qui contient des produits microbiens et le principe actif : si l'on obtient l'immunité, encore faut-il savoir *à quel élément du complexe elle est due.*

D'Hérelle (1), à propos de la typhose aviaire, fait remarquer que la protection est bien due au « Bactériophage », car elle est *immédiate*, tandis qu'une immunité organique, développée sous l'action des produits microbiens dissous, demanderait un certain temps pour s'installer.

Pour le barbone, après une injection de filtrat actif, il faudrait distinguer trois phases : immunisation précoce, mais de très courte durée, par le principe actif; puis période de non-immunisation, enfin immunisation tardive par action vaccinante des produits microbiens.

C'est à préciser la façon d'agir de chacun des éléments du complexe que nous nous sommes spécialement attaché.

(1) Le Bactériophage (Masson, 1921), p. 193.

CHAPITRE II

NOS EXPÉRIENCES (1922-1924)*

Nous avons opéré une série de recherches destinées à résoudre le problème suivant :

Un *complexe* formé par un filtrat actif de *principe lysant le B. de Shiga est injecté au cobaye.*

Quelle action préventive produit-il contre une injection *simultanée* ou *rapprochée* de B. de Shiga? Nous n'avons pas considéré les injections éloignées, l'immunité qui pourrait être attribuée à la lyse devant se produire très rapidement.

Quelles que soient les réactions observées, peut-on préciser à quelle partie du complexe chacune de ces réactions doit être attribuée ?

Nous avons, au préalable, cherché la dose de B. de Shiga (bacille de 24 heures sur gélose) capable de tuer un cobaye de poids moyen (350 gr.) en 6 jours. Un émulsion est obtenue par suspension d'une culture sur gélose dans 10 cc. de bouillon. XV gouttes de cette émulsion sont diluées dans 2 cc. de bouillon : c'est *la dose mortelle* M. Nous nous sommes assuré, ensuite, que notre principe actif, seul, aux doses employées, *n'était pas toxique* pour le cobaye : des cobayes témoins supportaient facilement une injection de 3 cc. d'un lysat filtré vieux de 6 semaines.

---

* Toutes nos expériences sur le cobaye ont été faites en collaboration étroite avec le docteur Carrère, chef des travaux de microbiologie. Qu'il trouve ici l'expression de notre reconnaissance.

§ 1. — ACTION DU LYSAT FILTRÉ TOTAL ACTIF

Nous avons tout d'abord cherché si le principe actif, injecté au cobaye, le préserverait d'une injection simultanée ou rapprochée de B. de Shiga.

Expériences I. — *Injections simultanées.*

4 cobayes reçoivent, *dans le péritoine*, une injection formée d'un mélange d'une dose mortelle M de B. de Shiga et de 3 cc. de principe actif bactériolysant vieilli B.

2 cobayes reçoivent, *sous la peau* de la cuisse, le même mélange M + B.

6 témoins reçoivent la dose mortelle M (4 dans le péritoine, 2 sous la peau). 2 témoins reçoivent 3 cc. de principe B, l'un dans le péritoine, l'autre sous la peau.

Les 6 premiers cobayes, ceux qui ont reçu des mélanges, meurent en 2 jours. Leurs 6 témoins (microbe seul) meurent au 6e jour. Les 2 derniers témoins (principe seul) survivent.

Expériences II. — *Injections successives.*

3 cobayes reçoivent chacun, dans le péritoine, 3 cc. de principe actif B.

Ils sont ensuite tous 3 éprouvés par injection sous-cutanée de la dose mortelle M de B. de Shiga :

Le 1er reçoit la dose M 24 heures après le principe B : il meurt au 7e jour après l'injection M.

Le 2e reçoit M 3 jours après avoir reçu B : il meurt au 6e jour après l'injection M.

Le 3e reçoit M 11 jours après avoir reçu B : il meurt au 4e jour après l'injection M.

Les témoins qui ont reçu seulement M meurent en 6 jours. Les témoins qui n'ont reçu que B survivent.

En somme, *le lysat filtré total n'a aucune action préventive.*

Injecté en même temps que le B. de Shiga, il accélère la mort des cobayes.

Telle est l'action du lysat filtré actif total que nous appelons B. Mais ce lysat bactériolysant est un produit complexe. On peut le considérer comme formé de deux éléments :

1° Le principe actif proprement dit (diastase ou ultravirus), que nous appelons P.

2° Des produits microbiens provenant du développement, puis de la dissolution des bactéries dans le milieu d'expérience. Ces produits sont solubles, filtrants : nous les appelons F.

On a : B = F + P.

Nous avons cherché à dissocier l'action de chacun de ces deux éléments du complexe.

P n'est pas isolable. On ne peut comprendre son action que si l'on peut obtenir F.

Pour étudier F, on peut, ou bien essayer de faire libérer aux microbes normaux des substances qui se rapprochent des produits microbiens des lysats, ou bien essayer de détruire dans B l'élément actif P.

§ 2. — VIEILLES CULTURES FILTRÉES*

Dans une vieille culture en bouillon, il se fait une libération de produits microbiens, par excrétion et par autolyse spontanée. Ces produits sont assez proches, semble-t-il, des produits microbiens F de nos lysats.

* Carrère avait déjà réalisé des expériences semblables, sur le cobaye, avec le B. de Shiga et le Para B.

Pour les isoler, il suffit de filtrer une vieille culture normale : on obtient un liquide que nous appelons encore F.

Préparation de F : filtration sur bougie Chamberland L_3 d'une culture normale de 10 jours en bouillon ; réensemencement de B. de Shiga dans ce filtrat ; nouvelle filtration après 10 autres jours de culture.

Expériences III. — *Injections simultanées.*

Deux séries, l'une de 3 cobayes, l'autre de 2 cobayes, sont préparées exactement dans les mêmes conditions que pour les expériences I, mais le filtrat total actif B est remplacé par une quantité égale de culture filtrée F.

Les témoins reçoivent une dose mortelle de B. de Shiga qui les tue au 6e jour. Les témoins injectés seulement de culture filtrée F résistent.

Les 5 cobayes qui ont reçu le mélange : dose mortelle de microbes + 3 cc. de culture filtrée F *résistent tous.*

Expériences IV. — *Injections successives.*

3 cobayes ayant reçu 3 cc. de culture filtrée F intrapéritonéale reçoivent ensuite, l'un 24 h. après, l'autre 48 h. après, le troisième 11 jours après, une injection sous-cutanée d'une dose mortelle M de B. de Shiga.

Aucun de ces trois cobayes ne meurt.

Les témoins sont éprouvés comme dans les expériences II.

Il résulte de ces deux séries d'expériences que *la culture filtrée F possède un pouvoir préventif qui apparaît très précocement et persiste assez longtemps.*

Les vieilles cultures filtrées doivent certainement leur pouvoir vaccinant aux *produits microbiens* qu'elles contiennent. On peut rapprocher de ces faits la vaccination réalisée dès 1887 par Chamberland et Roux (injection de de l'exsudat filtré provenant d'animaux malades). On peut encore les comparer à la vaccination du lapin contre le charbon, par injection d'un nucléoprotéide extrait de

la bactéridie (1). Enfin, les premiers vaccins antityphiques de Vincent (2) étaient des autolysats microbiens.

On connaissait donc depuis longtemps l'action vaccinante des produits de désintégration microbienne. Mais on admettait que l'apparition de l'immunité organique ne s'établissait pas rapidement : d'Hérelle avait même déduit de la précocité de ses immunisations qu'elles n'étaient pas organiques, mais étaient dues à la destruction bactérienne par lyse.

Pourtant, dès 1905, Karl Schmitz (3), isolant par la potasse les nucléoprotéides du vibrion cholérique, obtenait un vaccin *immunisant en 24 heures*. Mais ce sont les recherches de Besredka qui ont montré toute l'importance de cette immunisation précoce par cultures filtrées.

Quand nous avons entrepris nos expériences, Besredka venait d'établir qu'une immunité précoce (en moins de 24 heures) pouvait être obtenue, par vaccination locale, non seulement au moyen de corps microbiens (4), mais encore au moyen de cultures filtrées (5). Nous n'avons fait que répéter, pour le B. de Shiga, des expériences qu'il avait faites avec le staphylocoque.

La précocité d'une immunisation n'est pas une raison pour attribuer cette immunisation à d'autres facteurs que les produits microbiens ordinaires : cette précocité ne

---

(1) **Tiberti**. Centralblatt f. Bakter., t. XXXVI, 1904, p. 62, et t. XL, 1906, p. 792.

(2) C. R. Acad. des Sciences, t. CL, 1910, p. 482 ; et C. R. Soc. de Biol., t. LXXI, 1911, p. 269.

(3) Zeitschr. f. Hygien, t. LII, 1905, p. 1.

(4) C. R. Soc. de Biol, t. LXXXVIII, 1923, p. 1273.

(5) C. R. Soc. de Biol., t. LXXXIX, 1923, p. 7.

permet pas de reconnaître l'action spéciale d'un principe bactériolysant.

En résumé, d'après nos expériences, le principe B serait indifférent (injections successives), ou sensibilisant (injections simultanées). Son constituant F (produits microbiens) serait, dans les mêmes conditions, immunisant. L'action du principe proprement dit P serait donc contraire à celle des produits bactériens F. P *sensibiliserait le cobaye à l'infection.*

§ 3. — LYSAT FILTRÉ INACTIVÉ

Une contre-épreuve s'imposait ; détruire, dans le complexe actif B = F + P, le principe actif P : il resterait F (produits microbiens) et l'on étudierait son action.

Mais comment détruire P sans détruire F ?

Besredka avait montré que la substance immunisante des cultures filtrées de staphylocoque était thermostable, détruite à 120° seulement. Carrère eut alors l'idée qu'en chauffant à 110° pendant 20 minutes le complexe B, on obtiendrait un produit débarrassé du principe actif P (qui est détruit vers 65°-70°), tandis que les propriétés immunisantes des produits microbiens F seraient conservées. Ce complexe chauffé, nous l'appelons C : il est au fond l'équivalent de F.

Expériences V.

Nous avons refait les expériences I en remplaçant le lysat filtré actif total B par un lysat filtré inactivé (par chauffage) C. Les témoins injectés prouvent que la dose mortelle de bactéries tue le cobaye en 5 à 6 jours, tandis que l'injection de C seul est inoffensive.

3 cobayes reçoivent le mélange Bacille + C dans le péritoine ; l'un meurt au 5e jour, les deux autres meurent au 11e jour : préservation négligeable, mais *pas de sensibilisation.*

2 cobayes reçoivent le mélange Bacille + C sous la peau ; ils survivent tous les deux : *immunisation.*

Le produit complexe B, débarrassé du principe bactériolysant P, ne détermine plus la sensibilisation du cobaye à l'infection : il est même, dans certaines conditions, immunisant.

§ 4. — CONSÉQUENCES

L'accélération de la mort de nos premiers cobayes est due à l'action du principe bactériolysant proprement dit.

Comment expliquer ce pouvoir sensibilisant?

On peut admettre que le principe libère brusquement, *in vivo*, la totalité des endotoxines normales des B. de Shiga, après multiplication de ces bacilles* ; le cobaye est subitement intoxiqué** ; au contraire, le témoin est tué moins rapidement par les poisons microbiens extériorisés progressivement.

De ce que le lysat actif s'est ainsi comporté dans nos expériences, il ne faudrait pas conclure qu'il soit dangereux de l'essayer comme agent de vaccination préventive chez l'homme.

En effet, nos expériences cherchaient à réaliser une immunisation précoce : mais les conditions de la vaccination préventive sont pratiquement différentes ; d'ordi-

---

* Une libération semblable se fait *in vitro*, ce qui explique la toxicité des lysats récents.

** En 1922, nous avons réalisé deux fois l'expérience suivante :

Un cobaye reçoit, dans la cavité péritonéale, un mélange de lysat filtré actif et de B. de Shiga, à des doses trop faibles pour le tuer. Six jours plus tard, on fait, par la même voie, une nouvelle injection de B. de Shiga (même dose). On voit apparaître immédiatement des accidents convulsifs, et le cobaye meurt en quelques heures. Le principe a dû se régénérer à partir du premier mélange, et la seconde injection a dû être suivie d'une brusque libération d'endotoxines.

naire, on vaccine un certain temps avant la contamination : le principe actif proprement dit P pourrait dès lors s'éliminer, et seules les propriétés vaccinantes des produits microbiens F subsisteraient. Les vaccins les plus efficaces sont ceux qui se rapprochent le plus des cultures vivantes normales ; or, les produits de la lyse représentent des bactéries jeunes, disloquées en pleine activité vitale, sans intervention de la chaleur ni de substances chimiques : on pourrait peut-être utiliser leur action*.

Kabeshima (1), devant la difficulté de la vaccination antidysentérique, s'adresse expérimentalement au lysat actif : d'abord toxique, comme les autres vaccins antidysentériques, ce lysat perd sa toxicité par vieillissement. D'Hérelle propose d'employer ces vaccins atoxiques pour la prophylaxie des maladies humaines, en particulier de la dysenterie bacillaire (2).

Mais nos expériences n'allaient-elles pas faire redouter toute tentative de thérapeutique humaine par le principe actif ? Les injections simultanées, faites en vue d'étudier l'action préventive du principe, réalisent aussi des conditions semblables à celles d'un essai thérapeutique : mise en présence d'un microbe et du principe lysant correspondant. La coexistence dans l'organisme de la bactérie et de l'agent libérateur de toxines, dangereuse pour le cobaye, le serait-elle aussi pour l'homme ?

---

(1) C. R. Acad. des Sc., t. CLXIX, 1919, p. 1061.

(2) Le Bactériophage (Masson, 1921), p. 210.

* Besredka (Presse méd., 12 juillet 1924, p. 587) suppose que, dans la vaccination par corps microbiens, les phagocytes, en digérant ces corps microbiens, libèrent la substance immunisante contenue dans les cultures filtrées ; cette substance, il l'a appelée *antivirus* : sa libération permettrait l'établissement d'une immunité locale.

Nous ne saurions dire si l'immunité que nous avons obtenue (avec F ou C) était une immunité locale ; pourtant il est logique de penser que les lysats contiennent, libéré, l'antivirus de Besredka.

Nous n'avons aucune raison de l'affirmer. Il serait inexact d'assimiler l'organisme humain atteint de dysenterie, à l'organisme d'un cobaye ayant reçu une injection de B. de Shiga. N'oublions pas ce que Vincent écrivait (1) lors de ses premières recherches sur la vaccination antityphique : « Tout réussit chez le cobaye ; mais de là à conclure pour l'homme, il y a loin, et nous ne serions pas surpris si un jour le procédé qui paraît le moins efficace chez le cobaye se montrait le plus indiqué chez l'homme. »

(1) C. R. Acad. des Sc., t. CL, 1910, p. 335.

DIVISION III

ESSAIS DE THÉRAPEUTIQUE

CHAPITRE I

RECHERCHES NON PERSONNELLES

§ 1. — EXPÉRIMENTATION

Si l'on accepte la théorie de d'Hérelle, on admet que sitôt le Bactériophage adapté au microbe d'infection, la convalescence apparaît : l'injection ou l'ingestion au cours de la maladie, de Bactériophage adapté, devrait hâter la convalescence : il n'y aurait plus de temps perdu pour l'adaptation : « La thérapeutique y trouvera peut-être un jour une arme nouvelle », disait Damade (1) en 1919.

Devant les espérances que soulevait une telle conception, les biologistes semblent avoir brûlé l'étape de l'expérimentation (qui dit expérimentation doit dire recherches sur l'animal).

(1) Thèse de Bordeaux, 1919, n° 59, p. 82.

D'Hérelle cependant entreprend quelques essais de thérapeutique animale (1).

Il rapporte un fait qui a la valeur d'une expérience : Dans un milieu épizootique où règne la typhose aviaire, les poules malades guérissent dès que les déjections de l'une renferment un principe actif pour le B. gallinarum ; ces poules malades auraient trouvé l'agent thérapeutique en cherchant leur nourriture.

En outre, d'Hérelle injecte le principe actif à une centaine de poules malades : elles guérissent, seraient-elles moribondes, dans la proportion de 95 p. 100 (mortalité normale, 95 à 100 p. 100).

Bordet (2) injecte le principe actif pour le B. coli dans le péritoine d'un cobaye qui vient de recevoir une injection de B. coli normal (tuant le témoin en 8 heures) : l'animal guérit.

§ 2. — DYSENTERIE BACILLAIRE

D'Hérelle tenta, le premier, l'emploi du « Bactériophage » comme agent thérapeutique chez l'homme. Auparavant, il s'assura (3) sur lui-même, et sur des membres de sa famille, que l'ingestion de 30 cc. et l'injection de 1 cc. de principe (actif pour le B. de Shiga, et âgé de 6 à 40 jours), étaient inoffensives chez l'individu sain. Eliava fit un essai identique sur lui-même*. Le principe actif

(1) Le Bactériophage (Masson, 1921), pp. 156 et 189.

(2) C. R. Soc. de Biol., t. LXXXIII, 1920, p. 1293.

(3) Le Bactériophage (Masson, 1921), pp. 209 et 210.

* D'Hérelle refit, sans accident, l'essai avec un principe antipesteux ; Eliava avec un principe antistaphylococcique.

ingéré n'était pas détruit par les sucs digestifs : on le retrouvait dans les selles.

D'Hérelle traita des cas de dysenterie à B. de Shiga par *une seule ingestion* de 2 cc. de principe actif (vieux d'au moins un mois, le principe récent étant toxique). La dose employée était unique, car l'organisme recevant des doses multiples pourrait élaborer des anticorps neutralisant l'action du principe actif.

En 1921, d'Hérelle rapporte 7 observations (1) : *il constate la cessation des selles sanglantes et l'amélioration de l'état général dans les 24 heures qui suivent l'ingestion du principe.*

Le principe actif pour le B. dysentérique, absent des selles avant l'ingestion, y est retrouvé bientôt après : d'Hérelle attribue la guérison à la destruction des B. dysentériques de l'intestin par le Bactériophage qui se développe aux dépens de ces bactéries : non seulement le principe serait inoffensif pour l'individu malade, mais il constituerait un agent thérapeutique d'une efficacité remarquable* ; l'auteur invite les cliniciens à poursuivre ses propres recherches sur une plus grande échelle, en particulier dans les états typhiques et la peste bubonique, et, en général, dans toutes les maladies dues à un microbe pour lequel nous possédons un principe bactériolysant.

§ 3. — FIÈVRES TYPHOÏDE ET PARATYPHOÏDES

Beckerich et Hauduroy firent en février 1919 les premiers essais de thérapeutique dans la fièvre typhoïde au

(1) Le Bactériophage (Masson, 1921), p. 211.

* Otto et Munter (Deut. med. Woch., déc. 1921) n'obtiennent pas, dans la dysenterie, de résultats thérapeutiques probants.

moyen d'un principe lysant l'Eberth (ou le Para B). Ils rapportent leurs résultats en 1922 et 1923 (1).

1° *Traitement par ingestion de 2 cc. de principe actif.*

Obs. I. — Typhoïde de l'adulte à forme sévère. Ingestion au 8e jour : crise sudorale dans les 2 heures. Apyrexie le surlendemain, durant 48 heures. Reprise et mort.

Obs. II. — Typhoïde grave de l'adulte. Ingestion au 20e jour. Pas de modification. Mort.

Obs. III. Typhoïde moyenne de l'adulte. Ingestion au 18e jour. Sueurs 2 heures après l'ingestion. Défervescence en lysis 48 heures après. Guérison.

Obs. IV. — Typhoïde moyenne de l'adulte. Ingestion au 11e jour. Sueurs 2 heures après. Défervescence en lysis 48 heures après. Guérison.

Dans ces 4 cas, le principe injecté n'a pas été vérifié actif pour le microbe même de l'infection (microbe d'hémoculture).

2° *Traitement par ingestion et injection sous-cutanée de principe actif, les doses ne dépassant pas 2 cc.*

Obs. V. — Typhoïde grave de l'enfant. Ingestion et injection au 20e jour. Le surlendemain : apyrexie nette et durable.

Obs. VI. — Paratyphoïde B grave, chez l'enfant. Ingestion et injection au 9e jour de principe lysant le Para B. Apyrexie nette et durable le surlendemain.

Obs. VII. — Paratyphoïde B moyenne chez l'enfant. Ingestion et injection au 23e jour. Apyrexie le surlendemain.

Les Para B des Obs. VI et VII étaient lysables, *in vitro*, par le principe utilisé.

3° *Emploi de doses plus considérables : 1 cc. sous la peau et 5 cc. per os.*

Obs. VIII. — Typhoïde grave chez l'enfant. Ingestion et injection au 10e jour. Défervescence 48 h. après.

Obs. IX. — Typhoïde grave chez l'enfant. Ingestion et injection au 14e jour. Défervescence 48 heures après.

---

(1) C. R. Soc. de Biol., t. LXXXVII, 1922, p. 168; et Journal of Bacter., t. VIII, 1923, p. 163.

Obs. X. — Typhoïde de l'adulte. Ingestion et injection au 18e jour. Réaction thermique vive. Défervescence en 3 jours.

Observation personnelle (*Salle Combal*). Typhoïde très grave de l'adulte.

Injection de 2 cc. et ingestion de 3 cc. au 10e jour. Défervescence légère, sans réaction, le lendemain. Puis reprise. Le sujet meurt de complications 24 jours plus tard (Voir p. 122).

A côté de résultats favorables, de guérisons rapides, on note des échecs.

Philibert et Cordey ont l'impression que le principe, dans certains cas, *n'a aucune action*. Otto et Munter *ne signalent que des échecs* (1).

§ 4. — INFECTIONS URINAIRES A B. COLI

Dès 1922, Beckerich et Hauduroy (2) rapportent 2 cas de pyélocystite aiguë puerpérale traités par injection de principe actif : crise sudorale dans les deux heures. Apyrexie définitive le lendemain. Les deux B. coli étaient lysables *in vitro*.

En 1923 (3), ils exposent l'ensemble des résultats de 11 observations :

D'une façon générale (et avec quelques variantes), deux injections sont faites à 48 h. d'intervalle dans le tissu sous-cutané de la cuisse ou du bras. Chaque injection est de 3/4 de cc. chez l'enfant, de 1 cc. 5, à 2 cc. chez l'adulte. En outre, des lavages de principe actif pur ou dilué, à doses élevées, sont parfois effectués *in situ*.

On relève 6 guérisons complètes précédées de réactions locales ou de crises sudorales, une guérison clinique avec persistance de bacillurie, et 3 échecs.

---

(1) **Azerad.** Gaz. des Hôp., 1924, p. 629.
(2) C. R. Soc. de Biol., t. LXXXVI, 1922, p. 168.
(3) Bulletin médical, 1923, p. 273.

Parmi les cas guéris, il s'agissait 4 fois de pyélonéphrites aiguës (dont 1 chez l'enfant, et une post-puerpérale), 1 fois de pyélocystite aiguë, 1 fois de lithiase rénale avec bacillurie (le traitement chirurgical avait échoué), 1 fois d'une cystite chronique post-puerpérale, à poussées aiguës, traînant depuis 3 ans, et guérie en 7 jours.

Les guérisons observées sont rapides : elles s'opèrent en 3 à 10 jours.

Les échecs sont attribués par les auteurs, soit à ce que les B. coli ne sont pas lysables par le principe utilisé, soit à ce que les doses employées étaient trop faibles.

Courcoux, Philibert et Cordey (1) relatent l'observation d'une malade atteinte de pyélonéphrite gravidique à B. coli.

On obtient un principe capable de lyser son microbe. On injecte à la malade 5 cc. de ce principe par voie sous-cutanée et 15 cc. par voie vésicale, en une seule fois. La fièvre, qui atteignait 39° depuis plus d'un mois, cède brusquement et ne reparaît plus. Pourtant le B. coli est retrouvé dans les urines, considérablement clarifiées : les auteurs pensent qu'il s'agit d'une forme bactérienne résistante.

Philibert rapporte encore les cas de deux malades :

L'une fit une pyélonéphrite gravidique traitée sans succès par un auto-vaccin, et guérit rapidement après l'administration du principe actif ; l'autre fit une colibacillémie qui céda en 2 jours au même traitement.

Enfin, tout récemment, Arloing, Dufourt, Bouvier et Sempé (2) viennent de publier une observation de pyélonéphrite à B. coli chez une fillette de 13 ans.

L'auto-vaccination avait échoué. On employa un principe actif capable de lyser, *in vitro*, le B. coli infectant. En 4 jours, la malade reçut 4 injections de 2 cc. et ingéra en une fois 2 cc. de principe.

---

(1) Soc. méd. des Hôp., 7 juillet 1922.

(2) Soc. méd. des Hôp. de Lyon, 13 mai 1924.

Au bout de ce temps, la guérison clinique fut obtenue. Elle se maintint, bien que, deux mois après, l'urine renfermât encore quelques B. coli.

§ 5. — STAPHYLOCOCCIE

En décembre 1921, Bruynoghe et Maisin (1) entreprenaient des essais de thérapeutique au moyen d'un principe actif pour le staphylocoque.

Six malades atteints d'anthrax ou de furoncles sont injectés près de la région malade (principe stérilisé par chauffage à 56°. Dose : 0 cc. 5 à 2 cc.). Les effets se font sentir en 24 à 48 heures ; les éléments qui suppuraient se vident et sèchent rapidement. Ces inoculations sont parfois suivies d'une réaction fébrile, surtout quand les lésions sont vastes. Au point d'injection se produit un léger œdème douloureux.

Gratia (2) confirme ces recherches, en traitant des abcès, furoncles, anthrax, par la même méthode : il enregistre une accélération notable du processus de guérison.

Bastin (3) rapporte 6 observations personnelles :

2 furonculoses, 3 fistules ou ulcérations post-opératoires, 1 ostéomyélite : il note 3 guérisons, 2 insuccès, 2 cas où le principe s'est simplement montré bienfaisant.

§ 6. — LE NOUVEL AGENT THÉRAPEUTIQUE

Les résultats, variables selon les auteurs, ne sont pas démonstratifs. La méthode nouvelle a donné lieu à trop peu de recherches pour permettre une discussion ; elle appartient encore au domaine de l'empirisme.

---

(1) C. R. Soc. de Biol., t. LXXXV, 1921, p. 1120.
(2) C. R. Soc. de Biol., t. LXXXVI, 1922, p. 276.
(3) Thèse de Lille, 1922.

Ni la préparation du principe actif, ni son mode d'administration, ni les doses à employer ne sont définitivement réglés. On utilise des principes rendus atoxiques par vieillissement et on multiplie les voies d'introduction (ingestion, injection, application locale).

On donne ordinairement toute la dose en une seule fois, par crainte de la formation, dans l'organisme, d'anticorps antilytiques (1). Cependant Beckerich et Hauduroy pratiquent la double injection (à 48 h. d'intervalle), et Arloing a effectué 4 injections en quatre jours.

Le principe actif n'a jusqu'ici déterminé aucun accident (ce qui est déjà beaucoup pour un produit nouveau). Les réactions observées sont les unes locales (rougeur, œdème), les autres générales (fièvre et surtout crise de *sudation* deux heures après ingestion ou injection); elles ne semblent pas produites par l'antigène bactérien (2) (assertion mise en doute par Gratia et Jaumain) (3). Beckerich et Hauduroy considèrent la crise sudorale comme un indice révélateur de la bactériolyse *in vivo*.

Enfin, dans les cas favorables, on ne peut encore dire si l'immunité a été réalisée par le principe bactériolysant lui-même (destruction des bactéries ou libération de substances vaccinantes), ou par les produits microbiens contenus dans le filtrat employé.

De multiples essais sur le malade, de nombreuses expériences sur l'animal seront encore nécessaires *avant que l'on puisse juger le nouvel agent thérapeutique.*

---

(1) **D'Hérelle et Eliava.** C. R. Soc. de Biol., t. LXXXIV, 1921, p. 719 ; **Hauduroy.** C. R. Soc. de Biol., t. XC, 1924, p. 290 ; **Levinson.** Th. de Paris, 1922, n° 331.

(2) **Bruynoghe et Maisin.** C. R. Soc. de Biol., t. LXXXVI, 1922, pp. 294 et 739.

(3) C. R. Soc. de Biol., t. LXXXVI, 1922, p. 519.

CHAPITRE II

NOS EXPÉRIENCES (1924)

Nous venons de voir la complexité du problème de l'action curative ; nous nous sommes proposé*, chez le cobaye préalablement injecté d'une dose mortelle de B. de Shiga, de tenter quelques essais de thérapeutique au moyen du principe actif correspondant.

Nous avons comparé les actions : du *principe actif total* que nous appelons B, d'une *culture vieillie filtrée* F, du *principe chauffé inactivé* C** ; dans certains cas, nous ajoutons une épreuve avec *vaccin* V (bacilles tués par la chaleur).

Le principe total est : $B = P + F$, où P représente le principe proprement dit non isolable, F les produits microbiens ; on a aussi $C = B - P$. En étudiant les actions de B, de F et de C, on en déduira l'action du facteur P non isolable.

---

* Ces expériences ont été faites en collaboration avec le docteur Carrère.

** Les détails de préparation de ces divers principes sont les mêmes que pour les expériences de la Division II.

34 cobayes reçoivent sous la peau de la cuisse la dose mortelle M de B. de Shiga. En outre, des témoins sont semblablement inoculés. Toutes les injections sont sous-cutanées. La date de la mort est calculée à partir du jour d'injection de la dose mortelle M de B. de Shiga.

1° Injection unique.

1re série.

Cobayes 1 et 2	Reçoivent 24 h. après	1 cc. de	B.	Mort 7e jour
— 3 et 4	—	—	F.	Mort 6e et 8e j.
— 5 et 6	—	—	C.	Mort 7e et 6e j.

Cobaye témoin : mort 7e j.

2e série.

Cobaye 7	Reçoit 2 jours après	1 cc. de	B.	Mort 11e j.
— 8	—	—	F.	Mort 12e j.
— 9	—	—	C.	Mort 10e j.
— 10	—	—	V.	Mort 12e j.

— témoin : mort 5e j.

3e série.

Cobayes 11 et 12	Reçoivent 3 j. après	1 cc. de	B.	Mort 17e et 9e j.
— 13 et 14	—	—	F.	Mort 8e j.
— 15 et 16	—	—	C.	Mort 6e et 9e j.

Cobaye témoin : mort 6e j.

4e série.

Cobaye 17	Reçoit 4 j. après	1 cc. de	B.	Mort 6e j.
— 18	—	—	F.	Mort 8e j.
— 19	—	—	C.	Mort 8e j.

— témoin ; mort 6e j.

5e série.

Cobaye 20	Reçoit 5 j. après	1 cc. de	B.	Mort 9e j.
— 21	—	—	F.	Mort 8e j.
— 22	—	—	C.	Mort 7e j.

— témoin : mort 6e j.

Dans l'ensemble, l'*injection unique*, si elle retarde parfois un peu la mort des cobayes, *ne les guérit jamais*.

2° Injections multiples.

1re série.

Cobaye	23	reçoit 3 inj. de	B:	1 j., 3 j. et 8 j. après M.	Mort 14e j.
—	24	—	F:	—	Mort 14e j.
—	25	—	C:	—	Mort 11e j.
—	26	—	V:	—	Mort 12e j.

2e série.

Cobaye	27	reçoit 2 inj. de	B:	2 j. et 4 j. après M.	Mort 17e j.
—	28	—	F:	—	Mort 11e j.
—	29	—	C:	—	Mort 8e j.
—	30	—	V:	—	Mort 13e j.

3e série.

Cobaye	31	reçoit 2 inj. de	B:	3 j. et 6 j. après M.	Mort 30e j.
—	22	reçoit 1 inj. de	F:	3 j. après M.	(Mort avant la 2e piqûre).
—	33	reçoit 2 inj. de	C:	3 j. et 6 j. après M.	Mort 11e j.
—	34	—	V:	—	Mort 12e j.

2 témoins (communs à ces 3 séries) : mort au 5e j.

Les injections multiples retardent un peu la mort des cobayes mais *ne les guérissent pas*. Des quatre produits employés, c'est le *principe actif total qui s'est montré le plus efficace*.

Nous trouvons là des résultats différents de ceux que l'étude du pouvoir préventif (injections successives ou simultanées) nous avait fournis.

Le principe proprement dit P possède-t-il une action propre dans ces expériences et quel est le mécanisme de cette action?

Nous ne saurions encore rien conclure de précis de ces quelques recherches.

CONCLUSIONS GÉNÉRALES

I

Nous avons abordé le problème de *l'existence du Bactériophage*, en étudiant l'un des facteurs de déclanchement de la bactériolyse transmissible :

Des leucocytes aseptiques, recueillis loin du tube digestif, ont amorcé, in vitro, *le phénomène.*

Ces résultats supposeraient au Bactériophage un domaine d'habitation peu vraisemblable. Ils s'expliqueraient mieux si l'on admettait l'hypothèse diastasique sur laquelle sont édifiées deux théories : la théorie de Bordet et Ciuca, et la *théorie de la libération en avalanche des lysines normales* que nous avons contribué à mettre au point.

II

Nous avons effectué quelques recherches relatives au *rôle du principe bactériolysant dans l'immunité :*

1. Contrairement aux résultats obtenus par d'Hérelle et par Hauduroy, nous avons observé *l'apparition d'un principe lysant le B. d'Eberth ou le Para B, en parlant*

de selles de typhiques en pleine période d'état et dans des cas mortels.

2. Parmi les éléments constituants d'un filtrat complexe, *les produits microbiens ont pu conférer une immunité préventive précoce, alors que le principe actif proprement dit se comportait comme un facteur sensibilisant.*

3. *Employé expérimentalement comme agent curatif, le principe s'est pratiquement montré inefficace :* il a un peu retardé la mort, mais n'a pas entraîné la guérison.

A l'heure actuelle, on est encore en droit de se poser ces deux questions :

Le Bactériophage de d'Hérelle existe-t-il ?

La bactériolyse transmissible joue-t-elle un rôle dans l'immunité ?

En ma qualité de Censeur de tour, j'ai lu la Thèse ayant pour titre :

Le Bactériophage de d'Hérelle existe-t-il ? La Bactériolyse transmissible joue-t-elle un rôle dans l'immunité ?

par M. P. Boulet

Je pense que la Faculté peut en permettre l'impression.

Montpellier, le 30 juin 1924.

Le Professeur,

LISBONNE.

Vu :

Montpellier, le 1er juillet 1924.

Le Doyen,

EUZIÈRE.

Vu et permis d'imprimer :

Montpellier, le 1er juillet 1924.

Le Recteur,

Jules COULET.

TABLE DES MATIÈRES

Pages

AVANT-PROPOS 9

INTRODUCTION. — Le phénomène de la bactériolyse transmissible 11

PREMIÈRE PARTIE

LE BACTÉRIOPHAGE DE D'HÉRELLE EXISTE-T-IL ? 15

DIVISION I. — **Une grande discussion** : *Ultramicrobe bactériophage ou diastase bactérienne ? Analyse des propriétés du principe actif* 17

CHAPITRE PRÉLIMINAIRE. — Les deux hypothèses possibles. 17

§ 1. — *Régénération* 17

§ 2. — *Les deux hypothèses* 18

§ 3. — *Plan* 20

CHAPITRE I. — Le principe actif est-il diastasique ? 22

§ 1. — *Proportions* 23

§ 2. — *Composition du milieu d'action* 26

§ 3. — *Action de certains agents physiques non destructeurs* 30

§ 4. — *Agents de destruction* 32

§ 5. — *Conséquences* 37

Pages

Chapitre II. — Le piège de la génération spontanée..... 38

§ 1. — *Facteurs de déclanchement non purifiables*.... 40

§ 2. — *Déclanchement sans facteur étranger*..... 44

§ 3. — *Facteurs de déclanchement purifiés*..... 46

§ 4. — *Conséquences*..... 49

Chapitre III. — Les arguments majeurs de d'Hérelle..... 51

§ 1. — *Le problème du corpuscule*..... 52

§ 2. — *Le problème de l'autonomie substantielle : spécificité et assimilation*..... 57

§ 3. — *Le problème de l'adaptation*..... 69

§ 4. — *Bactériophage et Biologie générale*..... 76

Conclusions de la Division I..... 80

DIVISION II. — **Les synthèses :** *Trois théories*..... 81

Chapitre préliminaire. — Analyse et synthèse..... 81

Chapitre I. — Théorie de d'Hérelle (1917) : Le Bactériophage ultramicrobe des microbes..... 82

§ 1. — *Le cycle de la lyse*..... 82

§ 2. — *Les microbes attaqués se défendent*..... 84

§ 3. — *Origine du Bactériophage*..... 85

§ 4. — *Mécanisme intime de la lyse*..... 86

Chapitre II. — Théorie de Bordet et Ciuca (1920) : Viciation nutritive héréditaire et contagieuse..... 87

§ 1. — *Notion de défense*..... 88

§ 2. — *Notion de viciation nutritive : autolyse*..... 89

§ 3. — *Notion de contagion*..... 89

§ 4. — *Notion d'hérédité*..... 90

§ 5. — *Proportions. Plages*..... 92

Pages

Chapitre III. — Théorie de la libération en avalanche des lysines normales (1922)..... 94

§ 1. — *Difficultés soulevées par la théorie de Bordet et Ciuca*..... 94

§ 2. — *Exposé de la théorie*..... 95

§ 3. — *Historique*..... 97

§ 4. — *Critique de cette théorie*..... 98

Conclusions de la Division II..... 102

DIVISION III. — **Nos expériences (1921-1922) : *Exsudats leucocytaires aseptiques* in vitro**..... 104

Chapitre I. — Idées directrices..... 104

Chapitre II. — Technique et résultats..... 106

§ 1. — *Réponse à la notion de « défense » de Bordet*.. 106

§ 2. — *Réponse à l'objection de d'Hérelle*..... 108

§ 3. — *Bactériophage et leucocytes*..... 109

Conclusions de la Division III..... 111

DEUXIÈME PARTIE

LA BACTÉRIOLYSE TRANSMISSIBLE JOUE-T-ELLE UN ROLE DANS L'IMMUNITÉ ? 113

Chapitre préliminaire. — Comment se pose la question.. 115

DIVISION I. — **Rapports avec la convalescence**..... 117

Chapitre I. — Opinion de d'Hérelle et de Hauduroy..... 117

Chapitre II. — Nos recherches dans la fièvre typhoïde (1923-1924)..... 120

§ 1. — *Technique générale*..... 120

§ 2. — *Observations*..... 121

§ 3. — *Conséquences*..... 124

Pages

DIVISION II. — **Essais d'immunisation préventive** 126

CHAPITRE I. — Recherches non personnelles 126

CHAPITRE II. — Nos expériences (1922-1924) 129

§ 1. — *Action du lysat filtré total actif* 130

§ 2. — *Vieilles cultures filtrées* 131

§ 3. — *Lysat filtré inactivé* 134

§ 4. — *Conséquences* 135

DIVISION III. — **Essais de thérapeutique** 138

CHAPITRE I. — Recherches non personnelles 138

§ 1. — *Expérimentation* 138

§ 2. — *Dysenterie bacillaire* 139

§ 3. — *Fièvres typhoïde et paratyphoïdes* 140

§ 4. — *Infections urinaires à B. coli* 142

§ 5. — *Staphylococcie* 144

§ 6. — *Le nouvel agent thérapeutique* 144

CHAPITRE II. — Nos expériences (1924) 146

CONCLUSIONS GÉNÉRALES 149

SERMENT

En présence des Maîtres de cette École, de mes chers condisciples et devant l'effigie d'Hippocrate, je promets et je jure, au nom de l'Être suprême, d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité dans l'exercice de la Médecine. Je donnerai mes soins gratuits à l'indigent, et n'exigerai jamais un salaire au-dessus de mon travail. Admis dans l'intérieur des maisons, mes yeux ne verront pas ce qui s'y passe; ma langue taira les secrets qui me seront confiés, et mon état ne servira pas à corrompre les mœurs ni à favoriser le crime. Respectueux et reconnaissant envers mes Maîtres, je rendrai à leurs enfants l'instruction que j'ai reçue de leurs pères.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses! Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque!

MONTPELLIER. — IMPRIMERIE « L'ABEILLE », 14, AVENUE DE TOULOUSE